

THÈSE
POUR LE DOCTORAT EN PHARMACIE
(Diplôme d'Etat)

PAR

Madeleine JONADET
PHARMACIEN
Licenciée-ès-Sciences

Présentée et soutenue publiquement en Avril 1967

Contribution à l'étude critique
et expérimentale des activités
enzymatiques de la cornée

Président : M. DASTUGUE, *Professeur*
Membres du Jury : M. TRONCHE, *Professeur*
M. TURCHINI, *Professeur*
M. BASTIDE, *Professeur*

THÈSE
POUR LE DOCTORAT EN PHARMACIE
(Diplôme d'Etat)

PAR

Madeleine JONADET
PHARMACIEN
Licenciée-ès-Sciences

Présentée et soutenue publiquement en Avril 1967

Contribution à l'étude critique
et expérimentale des activités
enzymatiques de la cornée

Président : M. DASTUGUE, *Professeur*

Membres du Jury : M. TRONCHE, *Professeur*

M. TURCHINI, *Professeur*

M. BASTIDE, *Professeur*

IMPRIMERIE PAUL COUTY
CLERMONT - FERRAND
1967



Doyen : G. MEYNIEL
Assesseur : M. COULET

Directeur Honoraire : M. MERLE
Professeurs Honoraires : Mme BLANQUET,
MM. BUREAU, FOURNIER, GAUTHIER,
et POMMÉ

I. Professeurs titulaires :

MM. BARRIER. — Clinique Chirurgicale A.
BASTIDE. — Chimie Biologique et Pharmacodynamie.
BAUDON. — Clinique Obstétricale.
BERGERON. — Pathologie Médicale.
COULET. — Botanique et Microbiologie.
CUVELIER. — Hydrologie et Climatologie.
DASTUGUE. — Biochimie médicale.
DAUPHIN. — Chimie Pharmaceutique et Toxicologie.
DELAGE. — Anatomie pathologique.
FEBVRE. — Pharmacie Galénique.
GRAS. — Thérapeutique.
JACQUEMET. — Technique chirurgicale.
JALLUT. — Séméiologie Médicale.
LATAIX. — Pathologie Chirurgicale.
MEYNIEL. — Biophysique médicale.
MOLINA. — Clinique Pneumo-phtisiologique.
PETIT. — Médecine Légale et Médecine Sociale.
POROT. — Clinique Neurologique et Psychiatrique.
POURRAT. — Matière Médicale.
ROUHER. — Clinique Ophtalmologique.
TERRASSE. — Clinique Médicale B.
THIEBLOT. — Physiologie.
THOMAS. — Clinique Oto-rhino-laryngologique.
TRONCHE. — Pharmacie Chimique.
TURCHINI. — Histologie et Embryologie.
VAURS. — Bactériologie et Hygiène.
WILLEMIN-CLOG. — Clinique Médicale Infantile.

II. Professeur titulaire à titre personnel :

VIALLET. — Electro-Radiologie.

III. Professeurs sans chaire :

MM. ALFIERI. — Biophysique Médicale.
BERGER. — Chimie Analytique.
CLUZEL. — Bactériologie.
DUCHÊNE-MARULLAZ. — Physiologie.
GERMAIN. — Clinique Chirurgicale B.

IV. Maîtres de Conférences agrégés :

M. BOSSY. — Anatomie.
Mlle CHATONIER. — Chimie Minérale et Minéralogie.
Mme GAILLARD. — Physique Pharmaceutique.
M. MENUT. — Pédiatrie et Puériculture.
Mme MOINADE. — Médecine Générale et Thérapeutique.
M. PIGNIDE. — Médecine Générale.
Mme POURRAT. — Botanique.
M. VENRIES DE LAGUILLAUMIE. — Anatomie Pathologique.

V. Agrégés :

MM. CHAMPEIX. — Médecine Légale et Médecine du Travail
FOURRIER. — Orthopédie.
HOUDARD. — Chirurgie générale.
JANNY. — Neuro-Chirurgie.
MERCIER. — Chirurgie Générale.
Mlle RAMPON. — Médecine Générale.
MM. RENARD. — Pneumo-phtisiologie.
TOURNILHAC. — Neurologie et Psychiatrie.

Attaché Principal : M. BERTHON.

Bibliothécaire universitaire : M. ARCHIMBAUD.

La Faculté décide que les opinions émises dans les travaux et mémoires présentés à l'occasion d'une soutenance de thèse de Doctorat en Médecine ou en Pharmacie, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner ni approbation, ni improbation (Délibération en date du 6-6-1956).



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548619_0029

A MES PARENTS

*En témoignage de ma très affectueuse
reconnaissance.*

A MA FAMILLE

A MES AMIS

A NOTRE MAITRE

Monsieur le Professeur R. HAZARD

Professeur honoraire de Pharmacologie
à la Faculté de Médecine de Paris
Pharmacien honoraire des Hôpitaux de Paris
Membre de l'Académie de Médecine
Commandeur de la Légion d'Honneur

*Qui nous a fait l'honneur de parrainer
nos recherches auprès du Centre National
de la Recherche Scientifique. Qu'il veuille
accepter ici l'expression de notre très vive
gratitude et de notre profond respect.*

A NOTRE MAITRE ET PRÉSIDENT DE THÈSE

Monsieur le Professeur DASTUGUE

Professeur de Biochimie Médicale
Docteur en Médecine et en Pharmacie
Docteur ès Sciences
Lauréat de l'Académie de Médecine
et de l'Académie des Sciences
Chevalier de la Légion d'Honneur
Commandeur de la Santé Publique
Officier des Palmes Académiques

Qui nous a fait l'honneur de nous accueillir dans son Laboratoire et d'accepter la présidence de cette Thèse. Qui a sans cesse guidé nos recherches, tout en nous prodiguant ses conseils les plus bienveillants. Qu'il veuille trouver ici l'expression de notre respectueuse gratitude.

A NOTRE MAITRE

Monsieur le Professeur BASTIDE

Professeur de Chimie Biologique et de Pharmacodynamie
Pharmacien des Hôpitaux

Qui nous a fait l'honneur de nous accueillir dans son Laboratoire et a bien voulu suivre avec autorité et bienveillance l'élaboration de cette Thèse. Qu'il veuille accepter ici l'expression de notre reconnaissance et de notre vive gratitude.

AUX MEMBRES DE NOTRE JURY

Monsieur le Professeur TRONCHE

Professeur de Pharmacie Chimique
Diplômé d'Etudes Spéciales d'Ophtalmologie

Monsieur le Professeur TURCHINI

Professeur d'Histologie et d'Embryologie
Docteur ès Sciences

*Vifs remerciements et respectueuse
gratitude.*

INTRODUCTION

Depuis plusieurs années, le Laboratoire de Chimie Biologique et de Pharmacodynamie de la Faculté mixte de Médecine et de Pharmacie de Clermont-Ferrand a consacré de nombreux travaux aux activités enzymatiques des différents milieux biologiques. Au cours de ces investigations, est apparu à nos Maîtres, Monsieur le Professeur DASTUGUE et Monsieur le Professeur BASTIDE, tout l'intérêt que suscitaient les activités enzymatiques des milieux oculaires. Les recherches en ce domaine ont été résumées dans la Thèse de Doctorat en Médecine de Monsieur le Professeur BASTIDE en 1961; depuis cette date, de nombreux travaux ont été publiés sur ce sujet, tant au Laboratoire de Chimie Biologique et de Pharmacodynamie qu'au Laboratoire de Biochimie Médicale de notre Faculté.

Le présent mémoire dont le sujet nous a été inspiré par nos Maîtres, a pour but de reprendre, en les précisant et en les généralisant, nos recherches bibliographiques et expérimentales sur les activités enzymatiques de la cornée.

Notre travail se trouve donc divisé en deux parties suivies des conclusions générales.

— La première partie est consacrée aux recherches bibliographiques. Après un rappel de la structure et de la constitution chimique de la cornée, nous donnons un schéma général de classification des enzymes que nous avons adopté pour la suite de notre exposé.

Après cet aspect analytique, nous avons groupé les examens de quelques activités enzymatiques, en recherchant leur interférence dans les différents métabolismes et en essayant de dégager leurs principaux rôles biologiques...

— La deuxième partie est consacrée aux recherches expérimentales :

L'étude biochimique comporte un premier chapitre de généralités sur les prélèvements des globes oculaires, l'obtention des préparations enzymatiques et le mode d'expression des résultats. Ensuite nous examinons successivement les activités enzymatiques suivantes : lactate, α -hydroxybutyrate, glucose-6-phosphate déhydrogénasiques, catalasique, aminotransférasiques, lipasique-aliestérasique, cholines-térasiques, salicylestérasique, phosphatasiques, 5-nucléotidasique

spécifique, glucose-6-phosphatasique, amylasique, β -glucuronidasique, leucine aminopeptidasique, adénosine-triphosphatasique, fructose diphosphate aldolasique et glucosephosphate isomérasique.

L'étude histochimique débute par quelques généralités sur l'obtention des coupes de tissus et la préparation des milieux d'incubation. Ensuite nous envisageons la localisation au niveau des différentes couches de la cornée des quelques activités enzymatiques suivantes : lactate, glucose-6-phosphate, succinate déhydrogénasiques, NADH_2 et NADPH_2 tétrazolium réductasiques (diaphorasiques), α -naphthyl-acétate et 5-bromo indoxyl-acétate estérasiques, pseudocholinestérasique, phosphatasiques, 5-nucléotidasique, nucléoside triphosphatasique, glucose-6-phosphatasique, β -glucuronidasique et leucine aminopeptidasique.

Il nous a paru bon enfin de résumer les conclusions générales auxquelles nous avons abouti.

Nous ne saurions terminer cette introduction sans exprimer nos remerciements à notre Maître Monsieur le Professeur R. HAZARD, qui nous a fait l'honneur de parrainer nos recherches auprès du Centre National de la Recherche Scientifique. Nous le prions de croire à l'assurance de notre profond respect.

Nos remerciements iront également à notre Maître Monsieur le Professeur DASTUGUE, qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de cette Thèse. Nous l'assurons de notre respectueuse gratitude.

Nous prions notre Maître Monsieur le Professeur BASTIDE de bien vouloir accepter nos remerciements pour les conseils bienveillants qu'il nous a toujours dispensés durant sept années de collaboration fructueuse.

Nous assurons Monsieur le Professeur TRONCHE de notre respectueuse gratitude pour avoir bien voulu faire partie de notre Jury de Thèse.

Nous prions Monsieur le Professeur TURCHINI d'accepter nos vifs remerciements pour l'obligeance avec laquelle il a mis à notre disposition, dans le domaine de l'histo-enzymologie, les ressources si précieuses de son Laboratoire.

Nous tenons également à remercier Monsieur ARCHIMBAUD, bibliothécaire de la Faculté Mixte de Médecine et de Pharmacie; les Laboratoires CHIBRET, Clermont-Ferrand, qui ont grandement facilité nos recherches bibliographiques et ont procuré gracieusement les yeux de bovidés nécessaires à notre expérimentation.

Nous voulons enfin témoigner notre profonde reconnaissance à tous nos Maîtres de la Faculté mixte de Médecine et de Pharmacie pour la qualité de l'enseignement qu'ils nous ont prodigué.

PREMIÈRE PARTIE



RECHERCHES BIBLIOGRAPHIQUES

LA CORNÉE

I. — *STRUCTURE*

Nous n'étudierons pas ici l'anatomie de la cornée dans ses moindres détails, nous nous contenterons de rappeler quelques données essentielles.

D'origine embryologique double, à la fois ectodermique et mésodermique, la cornée est la partie transparente de la coque oculaire; elle occupe la région polaire antérieure du globe et ses dimensions sont éminemment variables selon les espèces considérées. Vue de face, elle a la forme d'une ellipse, son diamètre n'est pas identique sur tous les axes de l'œil; par contre, en arrière, la cornée présente un diamètre à peu près constant dans toutes les directions. Son rayon de courbure est plus petit que celui de la sclérotique et son épaisseur peut varier considérablement de 255 μ chez le Rat à 550 μ chez l'Homme ou le Chien et atteindre jusqu'à 860 et 1.080 μ respectivement chez le Cheval et le Bœuf [CALMETTES et coll., 1956 (88)].

Le tissu scléral empiète sur le tissu cornéen, aussi bien sur la face antérieure de la cornée que sur la face postérieure; en d'autres termes, nous pouvons dire que la périphérie amincie de la cornée est encastrée dans la sclérotique.

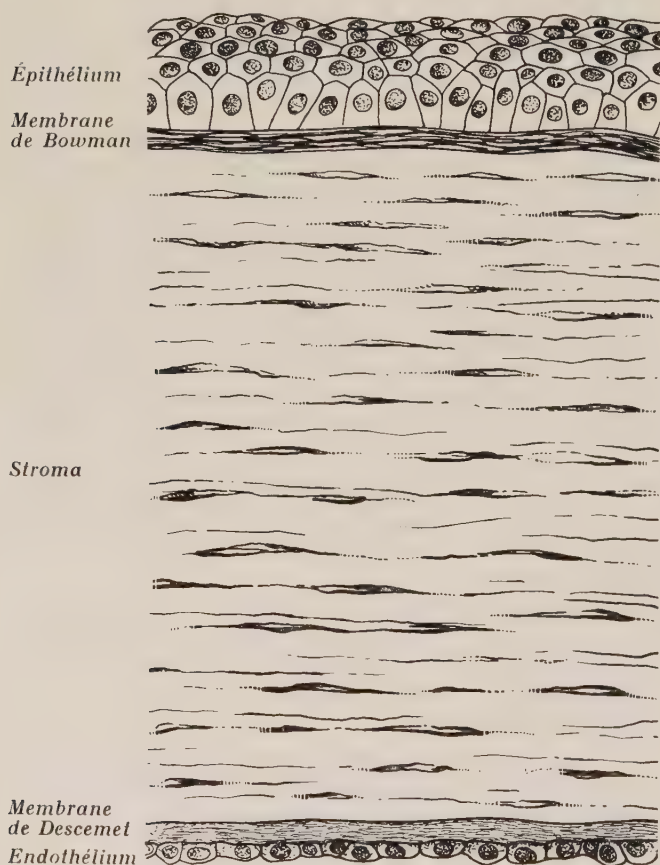
Le tissu scléral qui empiète sur la face antérieure est à son tour recouvert par la conjonctive, raison pour laquelle existe à la périphérie de la cornée, une zone où les trois membranes — cornée, sclérotique et conjonctive — sont superposées : cette zone s'appelle *zone limbique* ou *limbe*.

Dans la cornée, les anatomistes distinguent d'avant en arrière cinq couches : *épithélium*, *membrane de Bowman*, *stroma*, *membrane de Descemet* et *endothélium*. Ces différents éléments seront brièvement étudiés.

— *L'épithélium* recouvre la face antérieure de la cornée, à laquelle il donne un aspect uniforme, lisse et brillant; son épaisseur peut varier de 35 à 100 μ . Les auteurs classiques [DUKE-ELDER, 1938 (151); REDSLOB, 1939 (435)] le définissent comme un épithélium pavimenteux stratifié, non kératinisé, dans lequel le nombre de couches cellulaires est variable. Il comporte habituellement 7 à 8 couches chez l'Homme, 9 à 11 chez le Bœuf, 10 à 12 chez le Cheval, le Porc, 8 à 10 chez le Chien et 5 à 6 chez le Cobaye ou le Rat [CALMETTES et coll., 1956 (88)].

Ces couches cellulaires se différencient en trois assises : basale, intermédiaire et superficielle.

L'*assise basale*, toujours unistratifiée, est constituée de cellules très hautes, plus ou moins cylindriques, à cytoplasme clair, à noyaux volumineux, d'aspect crénelé et pauvres en chromatine; elle est le siège de nombreuses mitoses aussi bien chez l'Homme que chez l'animal [CALMETTES et coll., 1956 (88) ; MAURICE, 1962 (346) ; MISOTEN, 1964 (368) ; RENARD et coll., 1965 (440)].



COUPE SCHÉMATIQUE DE LA CORNÉE

L'*assise intermédiaire* comprend 2 à 3 couches de cellules chez l'Homme, le nombre de ces couches peut varier de 2 à 5 chez les diverses espèces animales. Les cellules dont le grand axe est toujours parallèle à la surface de la cornée sont de forme polyédrique

et ont une face basale concave. Le cytoplasme est granuleux, les noyaux présentent les mêmes caractéristiques que ceux de l'assise basale; enfin, une activité mitotique est également retrouvée dans ces cellules [CALMETTES et coll., 1956 (88); RENARD et coll., 1965 (440)].

L'*assise superficielle* est d'épaisseur variable, 2 à 3 couches cellulaires chez l'Homme et les animaux petits et 5 à 6 chez les plus gros. Les cellules profondes, légèrement aplaties, conservent une structure cytoplasmique et nucléaire semblable à celle de l'assise intermédiaire. Les cellules les plus antérieures sont très aplaties, leur épaisseur ne dépasse pas 2 à 5 μ . Le cytoplasme est très homogène, dense; les noyaux sont très aplatis, allongés en forme de bâtonnets et pauvres en chromatine. Il n'existe jamais, chez l'Homme comme chez l'animal, de kératinisation superficielle vraie des assises cellulaires, aboutissant à l'établissement d'une couche cornée proprement dite; cependant, la couche la plus externe, de nature glucidolipidique, semble être le témoin d'une transformation biochimique cytoplasmique très complexe et correspondant « à l'apparition à son niveau, d'un processus de prékératinisation, probablement processus de protection basé sur un remaniement dégénératif du cytoplasme des éléments cellulaires superficiels » [CALMETTES et coll., 1956 (88); RENARD et coll., 1965 (440)].

Au niveau de ces trois assises, la morphologie des espaces intercellulaires reste très discutée. Ces espaces particulièrement nets dans l'assise basale, sont à peine visibles au niveau de l'assise superficielle. Ils sont occupés par diverses formations, surtout observées dans les espaces larges. Ce sont : les ponts intercellulaires, les nodules de Bizzozero et la substance intercellulaire, ciment de nature glucidolipidique [CALMETTES et coll., 1956 (88); RENARD et coll., 1965 (440)].

Au microscope électronique, il a été possible de préciser, entre autres, la rareté des mitochondries, l'aspect filamenteux du cytoplasme et la présence entre les cellules, d'indentations et de desmosomes [MISSOTEN, 1964 (368)].

L'épithélium antérieur de la cornée repose sur une *mince membrane basale* dont l'existence, longtemps discutée, voire même ignorée, a été mise en évidence de façon nette il y a une quinzaine d'années, aussi bien chez l'Homme que chez les diverses espèces animales. Dans la partie centrale de la cornée, elle se présente comme un mince liseré, homogène et plan, alors que latéralement, elle s'épaissit, perd sa régularité et devient ondulée; elle semble composée de très fins filaments agglomérés. La face antérieure est nette et tranche sur l'épithélium sus-jacent, de même, sa face postérieure est plane et se distingue de la membrane de Bowman sous-jacente; elle se termine au niveau du limbe se continuant avec la basale de l'épithélium conjonctival [TENG et coll., 1953 (521); CALMETTES et coll., 1956 (88); RENARD et coll., 1965 (440)].

— La *membrane de Bowman* se présente sous la forme d'une bande hyaline acellulaire et homogène. Son épaisseur peut varier chez l'Homme de 8 à 12 μ , de la périphérie au centre. Sa face antérieure parfaitement régulière est très nettement délimitée mais sa face profonde, aux limites imprécises, ne peut être séparée du stroma sous-jacent. Au niveau du limbe, elle se termine « soit par une extrémité arrondie, soit en pointe, soit en s'effilochant entre les fibres conjonctives ». La *membrane de Bowman* présente un caractère particulier, son inconstance, elle n'existe vraiment que chez l'Homme et les Primates. Chez diverses espèces animales, le Bœuf en particulier, il est observé, à sa place, une simple condensation des fibres superficielles du stroma cornéen. Chez le Lapin, cette condensation superficielle présente cependant une épaisseur notable pouvant la faire considérer comme une membrane de Bowman rudimentaire [YAMAMOTO, 1953 (578); CALMETTES et coll., 1956 (88)].

Au microscope électronique, il est retrouvé cette absence de différenciation nette entre la membrane de Bowman et le tissu sous-jacent, cependant les fibrilles sont plus fines que dans le reste du tissu propre [JAKUS, 1961 (247)].

— Le *stroma* ou *substance propre* représente aussi bien chez l'Homme que chez les diverses espèces animales, 80 à 90 p. cent de l'épaisseur totale de la cornée. « C'est un tissu conjonctif adapté à la fonction de transparence. » De structure assez complexe, il apparaît classiquement constitué, chez l'Homme et les vertébrés en général, par la superposition de lamelles relativement régulières, d'épaisseur à peu près égale, variant de 1,5 à 2,5 μ , avec cependant une impression de tassement plus marqué dans le tiers antérieur.

En réalité, ces faisceaux sont des sortes de rubans, de 2 à 10 μ , juxtaposés et superposés et constitués de fibrilles de collagène ayant gardé le type embryonnaire. Lorsque ces faisceaux cheminent à une même profondeur, sans s'entremêler, ils forment de véritables lamelles, allant de limbe à limbe, mais ils peuvent bifurquer, s'entrelacer et s'imbriquer de façon très anarchique. Les fibrilles, noyées dans la *masse fondamentale* qui les maintient en cohésion, à égale distance les unes des autres, présentent un « aspect sale ». Au microscope électronique, elles apparaissent d'une extrême finesse, disposées parallèlement les unes aux autres; leur orientation dans un faisceau est approximativement perpendiculaire à celle du faisceau adjacent et leur dimension augmente d'avant en arrière.

Parmi ces fibrilles de collagène, se trouvent les cellules fixes de la cornée, les *kératocytes*. Ce sont des cellules rameuses, aplaties, à noyau volumineux, à bords réguliers; elles sont étalées parallèlement à la surface de la cornée et émettent de fins prolongements qui semblent s'anastomoser de cellule à cellule. Elles apparaissent pauvres en cytoplasme et en inclusions. À côté des cellules fixes, il existe parfois des *cellules migratrices*, ce sont le plus souvent des leucocytes émigrés des arcades périphériques [FRANÇOIS et RABAEY,

1960 (175) ; JAKUS, 1961 (247) ; POLACK, 1961 (426) ; MAURICE, 1962 (346) ; POULIQUEN, 1963 (430) ; MISSOTEN, 1964 (368) ; RENARD et coll., 1965 (440)].

— La *membrane de Descemet* ou limitante postérieure est une lame vitrée, élastique, élaborée par les cellules de la couche endothéliale, elle recouvre la face postérieure du stroma dont elle est nettement séparée. Epaisse de 5 à 10 μ , elle semble plus mince au centre qu'à la périphérie où elle se continue dans les fibres qui constituent le *trabeculum* scléral; son épaisseur augmente avec l'âge en même temps qu'apparaissent des irrégularités de sa face postérieure périphérique, les *corps de Hassal-Henle*, qui font saillie dans la chambre antérieure et sont à peine recouverts d'une fine couche endothéliale.

Au microscope électronique, l'organisation de cette membrane semble plus apparente chez les bovidés; chez ces animaux, en effet, la Descemet présente en coupe antéro-postérieure, une striation transversale irrégulière et les stries denses sont connectées par des fibrilles. Les coupes tangentielles révèlent un réseau hexagonal de fibrilles présentant des épaississements aux intersections et la substance fondamentale qui occupe les mailles de ce réseau est finement granuleuse, parfois fibrillaire.

Cette texture décrite pour la cornée de Bœuf est visible dans la partie antérieure de la Descemet chez l'Homme, mais la partie postérieure, proche de la couche endothéliale, a un aspect homogène et peu structuré. Chez le Rat, l'organisation de la membrane apparaît très inégale, par plages clairsemées.

Chaque corps de Hassal-Henle est parsemé d'un réseau complexe de fentes et de tunnels anastomosés, contenant des fibres fusiformes ou ramifiées ayant tendance à former des couches qui cliquent, à la périphérie, la membrane en fragments multiples [JAKUS, 1956 (246) ; MAURICE, 1962 (346) ; MISSOTEN, 1964 (368) ; RENARD et coll., 1965 (440)].

— L'*endothélium* recouvre la face postérieure de la cornée, il est constitué aussi bien chez l'Homme que chez les diverses espèces animales, par une seule assise de cellules connectives, plates et fragiles dont la face basale repose directement sur la membrane de Descemet. Ces cellules, de forme polygonale, ont une épaisseur d'environ 5 à 6 μ et un diamètre qui peut atteindre 15 à 20 μ ; elles présentent un cytoplasme granuleux contenant un noyau ovoïde qui fait saillie vers la membrane de Descemet. Au niveau des espaces intercellulaires, il existe des pores, considérés comme importants dans les phénomènes de nutrition par l'humeur aqueuse [SHANTHAVEERAPPA et coll., 1963 (485)].

Au microscope électronique, il a pu être précisé, entre autres, l'abondance des mitochondries et des vacuoles à paroi simple, mais les composants fibrillaires et les desmosomes visibles dans les cellules de la couche épithéliale, n'ont jamais été observés.

Chez le Lapin, les cellules endothéliales sont reliées les unes aux autres par une bandelette obturante, qui fait le tour de la cellule près de sa surface camérulaire [KAYE et PAPPAS, 1962 (259)]. Chez l'Homme et le Rat par exemple, cette zone d'attache n'existe pas mais les parois des cellules semblent mieux imbriquées [KAYE, 1962 (258)].

Il faut signaler qu'il n'y a pas de mitoses dans l'endothélium, en dehors des jours qui suivent la naissance, exception faite pour le Lapin [Von SALLMANN et coll., 1961 (463)]; l'accroissement se fait par division amitotique. Cependant, après lésion de l'endothélium, la zone endommagée est le siège de nombreuses mitoses [MILLS et DONN, 1960 (364)]. De plus, les cellules endothéliales sont douées d'un grand pouvoir de régénération [MAURICE, 1962 (346); SKRZYPCZAK, 1963 (496); MISSOTEN, 1964 (368); RENARD et coll., 1965 (440)].

La cornée est innervée par un abondant réseau de fibres nerveuses amyéliniques provenant des nerfs ciliaires qui ont pénétré dans la sclérotique au niveau du pôle postérieur. Ces fibres nerveuses se trouvent condensées dans les couches antérieures du stroma où se constitue un véritable plexus sous-bowmanien; il en part des ramifications qui perforent la membrane de Bowman et la basale de l'épithélium. A ce niveau, les fibres perdent leur gaine de Schwann et s'appliquent sur la paroi des cellules épithéliales qu'elles dépriment sans les pénétrer.

A côté de ce réseau principal, existe un autre réseau provenant des nerfs de la conjonctive et de l'épiscière. Ils pénètrent au niveau du limbe et forment à la périphérie de la cornée, un complexe annulaire qui émet des ramifications se dirigeant vers l'épithélium et vers les couches profondes du stroma [THOMAS, 1955 (525); WHITEAR, 1957, 1960 (365, 366); TENG, 1962 (520); MISSOTEN, 1964 (368); RENARD et coll., 1965 (440)].

La cornée normale ne contient pas de vaisseaux, car la vascularisation sanguine s'arrête au niveau de la zone limbique. Certains auteurs pensent que les mucopolysaccharides sont des facteurs pouvant s'opposer à la vascularisation, mais la plupart d'entre eux ne signalent aucun changement dans la nature et l'organisation du mucoïde des cornées vascularisées. « Aussi, s'ils admettent qu'il peut exister un certain rapport entre vascularisation cornéenne et mucopolysaccharides, ils ne peuvent conclure que ces derniers aient un véritable rôle anti-vaisseaux » [MEYER et CHAFFEE, 1940 (357); POLATNICK et coll., 1956 (427); FRANÇOIS et RABAEY, 1960 (175); OFFRET et coll., 1962, 1963 (396, 397)].

II. — CONSTITUTION CHIMIQUE

Chez l'Homme et les différentes espèces animales, la cornée est essentiellement constituée par ordre décroissant d'importance pondérale, d'eau, de collagène, de mucopolysaccharides et de nombreux

autres constituants organiques et inorganiques, dont l'importance métabolique dépasse de loin le faible pourcentage.

— *Eau.*

L'eau représente selon les espèces de 75 à 82 p. cent du poids total de la cornée; elle semble fixée, en majeure partie, au niveau de la substance mucoïde du stroma [DUANE, 1949 (150); DAYSON, 1949, 1955 (131, 132); THOMAS, 1955 (525); MAURICE, 1962 (346); OFFRET et coll., 1962 (396)].

A. — CONSTITUANTS ORGANIQUES.

1° GLUCIDES ET DÉRIVÉS

— *Mucopolysaccharides.*

Les mucopolysaccharides sont les constituants majeurs de la substance fondamentale des tissus conjonctifs; dans la cornée, ils représentent environ 15 p. cent du poids sec. Ce sont des polyosides, de poids moléculaire élevé et dont le caractère acide est conféré soit par la présence d'acide uronique dans la chaîne polysidique, soit par la présence de radicaux sulfate estérifiant des fonctions alcool. La présence de ces groupes anioniques leur donne le pouvoir de fixer les cations et les molécules d'eau.

Contrairement aux autres tissus conjonctifs, le tissu propre de la cornée contient seulement trois types de mucopolysaccharides dont les proportions et la composition sont les suivantes :

La chondroïtine, 21 à 27 p. cent; elle est composée d'acide glycuronique et de galactosamine acétylée et elle est pauvre en groupes sulfate. Ce mucopolysaccharide est attaqué par les hyaluronidases testiculaire et bactériennes.

Le chondroïtine-sulfate A, 20 à 26 p. cent, est une chaîne d'acide glycuronique et de galactosamine acétylée, portant un groupe sulfate sur chaque galactosamine. Il est surtout attaqué par l'hyaluronidase testiculaire.

Le kératosulfate, 47 à 50 p. cent, est dépourvu d'acide uronique. Il est constitué de glucosamine acétylée et sulfatée et de galactose et résiste à l'action des hyaluronidases. Le taux élevé de kératosulfate est caractéristique du tissu cornéen [ANSETH et LAURENT, 1961, 1962 (15, 16); OFFRET et coll., 1962 (396); MAURICE, 1962 (346); OFFRET et FOULIQUEN, 1964 (397)].

Cette originalité dans la composition en mucopolysaccharides de la cornée est probablement en rapport avec ses fonctions spéciales, au premier rang desquelles est placée la transparence et sur lesquelles nous reviendrons en détails dans la suite de cet exposé.

— *Glycogène, glucose.*

Le glycogène est une substance glucidique de réserve, jouant

un rôle capital dans les processus énergétiques. Il est, pour la plus grande part, localisé au niveau des trois couches de l'épithélium, prédominant toutefois au niveau de l'assise basale. Il représente 7,5 pour cent du poids sec et provient du glucose amené par le sang, l'humeur aqueuse et les larmes et sa localisation est toujours strictement intra-cellulaire [DAY, 1950 (133); FRIEDENWALD, 1950 (181); CALMETTES et coll., 1956 (88)].

D'après WEEKERS, 1940 (560), le taux de glucose retrouvé dans la cornée est de 120 mg p. cent environ.

— *Glycoprotéines.*

Le glycogène de l'épithélium cornéen est en majeure partie solidement lié à une protéine, pour former un complexe glycogène-protéine ou glycoprotéine qui constitue un stade important dans le métabolisme glucidique.

De plus, la substance propre contient une glycoprotéine de structure, liée au collagène soluble et insoluble, la kératoglycosaminoglycane -1 (KGAG - 1) qui jouerait un rôle important dans la fibrillogénèse.

La présence de glycoprotéines a été également retrouvée au niveau de l'endothélium [FRANÇOIS et coll., 1961 (178); SCUDERI et coll., 1962 (476, 477); DISCHE et ROBERT, 1962 (143); MIGLIOR et ORZALESI, 1964 (362); ROBERT et coll., 1963, 1965 (448, 449)].

— *Mucoïde.*

Le stroma contient une grande quantité de mucoïde, ciment interfibrillaire. Classé autrefois comme une glycoprotéine [KRAUSE, 1932 (293); SCHAEFFER et MURRAY, 1950 (467)], sa composition est analogue à celle de l'acide mucoïtine — ou chondroïtine — sulfurique, ce serait un ester sulfurique de l'acide hyaluronique [MEYER et CHAFFEE, 1940 (356, 357); FRANÇOIS et RABAËY, 1953, 1954, 1956 (170, 171, 173); RIGG et coll., 1959 (442)]. Il serait constitué par un complexe mucopolysaccharide-protéine, dans lequel le mucopolysaccharide serait désigné comme un mucoïtine sulfate et la protéine, différente du collagène, posséderait une teneur élevée en tryptophane et tyrosine [WOODIN, 1950, 1952, 1954 (570, 571); BAZIN et DELAUNAY, 1961 (55)].

C'est au niveau de la substance mucoïde que semble fixée la majeure partie de l'eau interstitielle, phénomène d'importance primordiale dans le problème de la transparence cornéenne [OFFRET et coll., 1962 (396)].

Récemment a été signalé un complexe *kératosulfate peptide* dans lequel l'acide aspartique est le composant protéinique le plus important [CASTELLANI et coll., 1965 (94)].

— Composés glucido-lipidiques.

Ces composés ont été mis en évidence au niveau de l'assise la plus superficielle de l'épithélium. Plusieurs hypothèses peuvent expliquer l'existence de cette couche glucido-lipidique. Il pourrait se produire une imbibition du cytoplasme et des espaces intercellulaires par le liquide lacrymal riche en glucides et lipides ou bien le cytoplasme pourrait s'imprégner de la substance intercellulaire, ciment également de nature glucido-lipidique. Cependant, il semble préférable d'admettre, comme nous l'avons déjà indiqué précédemment que cette couche est le témoin d'une transformation biochimique cytoplasmique très complexe mettant en jeu des composés glucidiques, lipidiques et protéiniques [WISLOCKI, 1952 (567); CALMETTES et coll., 1956 (88)].

— Acide neuraminique.

La fraction mucoprotéique du stroma et de l'endothélium contient un corps présentant toutes les propriétés de l'acide neuraminique [SCHMIDT, 1960 (472)].

2° PROTIDES ET DÉRIVÉS

— Acides aminés.

Les premières déterminations en acides aminés des protéines de la cornée mentionnent seulement la présence de : lysine, arginine, histidine, cystéine, tyrosine et tryptophane [JESS, 1923 (250); KRAUSE, 1932 (293)]. Par la suite, des travaux plus récents ont permis de mettre en évidence les acides aminés suivants : glycocole, alanine, valine, leucine, isoleucine, sérine, thréonine, cystéine, méthionine, cystine, acide aspartique, asparagine, acide glutamique, lysine, arginine, phénylalanine, tyrosine, tryptophane, histidine, proline, hydroxyproline [SCHAEFFER et coll., 1950 (467, 468); de BERARDINIS, 1959 (62); USUI, 1961 (535); TSUNO et coll., 1963 (534); RACZ, 1963 (432)].

— Histamine.

Dans la cornée, le contenu en histamine libre est élevé et associé au contenu en mucopolysaccharides [GROF, BOROS et AGOSTON, 1964 (201)].

— Glutathion.

La majeure partie du glutathion présent dans la cornée se trouve au niveau de l'épithélium et sa teneur correspond environ à 16 mg pour cent de tissu [HERRMANN et coll., 1945 (225); THOMAS, 1955 (525); RIGG et coll., 1959 (442); DANIELE, 1961 (113)].

— Protéines.

a. La substance sèche obtenue à partir de l'épithélium cornéen contient 42 p. cent de protéines insolubles et 31 p. cent de protéines solubles. Des différentes couches de la cornée, l'épithélium possède donc la plus haute concentration en protéines solubles.

Il a pu être isolé, par électrophorèse, quatre fractions protéiniques hydrosolubles et par rapport au sérum humain normal, il est possible de constater :

Fraction I (12 p. cent) située entre l' α 1 et l' α 2 globulines;

Fraction II (65 p. cent) migrant derrière la β -globuline;

Fraction III (9 p. cent) migrant au même endroit que la γ -globuline;

Fraction IV (6,5 p. cent) migrant derrière la γ -globuline.

(Les valeurs indiquées représentent le pourcentage par rapport aux protéines totales.)

La fraction III correspond au complexe glycogène-protéine, ou glycoprotéine, dont il a été fait mention précédemment [KRAUSE, 1932, 1936 (293, 296); GRIGNOLO, 1954 (200); FRANÇOIS et RABAËY, 1954, 1956, 1963 (171, 174, 176); MUNICH et OSWALD, 1955 (379); STEINVORTH, 1960 (503); KAWEREAU et OTT, 1961 (257)].

Des traces d'albumines sont également relevées [THOMAS, 1955 (525)].

b. Les protéines du stroma cornéen représentent 25 p. cent des substances organiques. La majeure partie (18,7 p. cent) est représentée par les protéines insolubles, alors que les protéines solubles sont à l'état de traces (0,015 p. cent) [GRIGNOLO, 1954 (200)] :

Collagène.

Le collagène est une protéine fibreuse qui possède une concentration élevée en glycine, proline et hydroxyproline, acides aminés peu abondants dans les autres protéines. Il entre dans la proportion de 75 à 80 p. cent dans la composition du tissu sec et constitue 19 p. cent du poids total de la cornée. Présent en majeure partie au niveau du stroma, il est pauvre en soufre et en tryptophane et son taux d'azote total est bas. Résistant, *in vitro*, à la trypsine, il est assez bien hydrolysé par la collagénase, la pepsine et la papaïne. Le collagène du stroma cornéen est de type embryonnaire. Il est capable d'absorber l'eau en grande quantité, l'absorption maxima se situe à pH 2,0 et à pH 4,0; cette dernière valeur correspondant environ au maximum d'absorption de la cornée totale, « le collagène ne semblerait donc pas, *a priori*, responsable de l'hydratation cornéenne » [THOMAS, 1955 (525); MAURICE, 1962 (346); ITOI, 1960 (240); OFFRET et coll., 1962 (396); PAYRAU, 1962 (409); MISSOTEN, 1964 (368)].

En général, dans la trame conjonctive, la substance collagène est chimiquement liée aux constituants de la substance fondamentale, principalement à ses constituants glucidiques. La précipitation, *in vitro*, du collagène acido-soluble par les mucopolysaccharides, traduit une véritable combinaison chimique [DELAUNAY et BAZIN, 1957 (134)].

Dans la cornée, cette liaison intime du collagène et des mucopolysaccharides ne paraît pas exister [POLATNIK, LA TESSA et KATZIN, 1957 (428)]. S'il n'est pas douteux que des interactions doivent se produire et que les mucopolysaccharides jouent un rôle dans la fibrillogénèse du collagène, il y a indépendance métabolique entre les deux éléments [FRANÇOIS et RABAEY, 1953, 1954 (170, 171); OFFRET et coll., 1962 (396)].

Elastine.

L'élastine est présente seulement à l'état de traces [KRAUSE, 1932 (293); THOMAS, 1955 (525); PAYRAU, 1962 (409)].

Albumines, globuline, sidérophiline.

Différents travaux relèvent la présence d'albumines α et β , de γ -globuline et de sidérophiline, au niveau du stroma cornéen [KAWEAU et OTT, 1961 (257)].

c. La composition protéique de la couche endothéliale ne diffère pas sensiblement de celle de l'épithélium.

— *Acides nucléiques* (représentent 8,5 p. cent du poids sec):

L'acide ribonucléique — RNA — a été décelé dans le cytoplasme des cellules épithéliales, sa présence est inconstante et toujours en faible quantité. Cependant, sa localisation prédominante au niveau de l'assise basale confirme le rôle important de cette assise dans le métabolisme de la couche épithéliale.

L'acide désoxyribonucléique — DNA — est disposé de façon irrégulière dans tous les noyaux épithéliaux, sous forme de grains très souvent collés sur l'une des faces de la membrane nucléaire [ICHIKAWA, 1953 (235); CALMETTES et coll., 1956 (88); FRANÇOIS et coll., 1960 (175); PAYRAU, 1962 (409)].

Les nucléotides séparés par chromatographie et identifiés par leur spectre d'absorption dans l'U.V., il a été possible de constater que les fractions RNA contiennent chacune 30 p. cent de cytidine monophosphate et de guanosine monophosphate et 20 p. cent d'uridine monophosphate et d'adénosine monophosphate [ZIGMAN et coll., 1963 (587)].

— *Nucléoprotéines.*

Le contenu en nucléoprotéines est peu élevé et concentré principalement au niveau de l'épithélium; il atteindrait environ 8,5 p.

cent du poids sec [KRAUSE, 1932 (293) ; THOMAS, 1955 (525) ; RICE et coll., 1959 (442)].

3° LIPIDES ET DÉRIVÉS

Le contenu lipidique de l'épithélium cornéen (4,3 p. cent du poids sec) est environ 100 fois plus important que celui de la substance propre; il entre probablement en jeu pour la perméabilité préférentielle de cette couche aux substances liposolubles. Au niveau de la membrane basale de cet épithélium, il a été mis en évidence un complexe phospho lipidique qui serait le *plasmalogène* [KRAUSE, 1932 (293) ; LA TESSA et coll., 1954 (315) ; THOMAS, 1955 (525) ; CALMETTES et coll., 1956 (88) ; GUAYMAS, 1962 (202)].

— *Acétylcholine.*

La teneur en acétylcholine de l'épithélium cornéen peut varier dans la proportion de 100 à 200 μ g par gramme de tissu [BRUCKE et coll., 1949 (83) ; ALPHEN, 1957 (4)].

— *Lipoprotéines.*

Différents travaux mentionnent une faible quantité de lipoprotéines (fraction II) décelables parmi les protéines hydrosolubles de l'épithélium [FRANÇOIS et RABAEY, 1954, 1956 (172, 174)].

Par la suite deux fractions lipoprotéiques sont mises en évidence au niveau de l'épithélium, ainsi que des phospholipoprotéines [STEINVORTH, 1958 (502) ; MIGLIOR et ORZALESI, 1964 (362)]. Par contre, le stroma semble dépourvu de β -lipoprotéine [KAWERAU et OTT, 1961 (257)].

4° VITAMINES ET FACTEURS ÉNERGÉTIQUES

Le taux de *thiamine* relevé au niveau de l'épithélium cornéen peut varier de 26 à 42 μ g par gramme de tissu [BRUCKE et coll., 1949 (83)].

La présence de *riboflavine* mise en évidence au niveau de l'épithélium semble provenir directement du liquide lacrymal. La quantité relevée au niveau du stroma se révèle très inférieure [PHILPOT et PIRIE, 1943 (417) ; THOMAS, 1955 (525)].

L'*acide nicotinique* a été signalé également au niveau de la cornée [SIMONELLI, 1941 (495) ; THOMAS, 1955 (525)].

La teneur en *acide L-ascorbique* peut varier dans la proportion de 24 à 55 mg p. cent grammes de tissu frais. La haute concentration retrouvée dans l'épithélium doit être due au fait que l'acide ascorbique présent dans l'humeur aqueuse traverse l'endothélium et le stroma où il demeure à l'état de traces pour se concentrer fina-

lement dans l'épithélium qu'il ne peut traverser [PIRIE, 1946 (419) ; THOMAS, 1955 (525) ; RIGG et coll., 1959 (442) ; HEATH, 1962 (215)].

De plus, à côté du phosphore inorganique dont il va être fait mention, il convient de signaler que de tous les tissus oculaires, la cornée est l'un des plus actifs en ce qui concerne la phosphorylation. Le *phosphore organique* contenu dans l'épithélium, constitue en moyenne plus de 60 p. cent du phosphore total extractible et les composés phosphorés dont la présence est certaine sont : A.T.P., A.D.P., A.M.P., D.P.N., G.1.P., G.6.P., F.6.P. [de BERARDINIS, 1961 (66)].

B. — CONSTITUANTS INORGANIQUES.

Le *sodium* décelé (263 mg p. cent) est environ 4 fois plus abondant que le *potassium* (66 mg p. cent). Le *calcium* et le *magnésium* existent en très petites quantités (respectivement 10 mg et 3 mg p. cent). La substance propre serait approximativement en équilibre osmotique avec l'humeur aqueuse [FISCHER, 1930 (169) ; DAVSON, 1949 (131) ; THOMAS, 1955 (525)].

Des traces de *fer*, de *cuivre*, de *manganèse* et de *zinc* sont également décelées dans la cornée [RIGG et coll., 1959 (442) ; PAYRAU, 1962 (409)].

Les *phosphates* se retrouvent dans la proportion de 42 mg pour cent; les *chlorures* et les *sulfates*, respectivement 260 mg et 280 mg p. cent [FISCHER, 1930 (169) ; THOMAS, 1955 (525)].

Le *phosphore inorganique* contenu dans l'épithélium représente environ 40 p. cent du phosphore total extractible [de BERARDINIS, 1961 (66)].

LES ENZYMES

Il n'entre pas dans le cadre de ce travail de faire un exposé détaillé du mécanisme des actions enzymatiques. Rappelons seulement que les enzymes représentent les catalyseurs de la plupart des réactions chimiques si nombreuses et si diverses qui se déroulent avec tant de facilité *in vivo* et qu'il est habituellement possible de reproduire *in vitro*.

Le schéma général de classification adopté pour cet exposé est établi selon les « *Recommendations of the International Union of Biochemistry on the Nomenclature and Classification of Enzymes* », 1964 (154).

1. — OXYDOREDUCTASES

AGISSANT SUR LES GROUPEMENTS CH—OH DES DONNEURS (1.1).

— Avec NAD ou NADP comme accepteur (1.1.1).

Alcool déhydrogénase (1.1.1.1).

Lactate déhydrogénase (1.1.1.27).

Hydroxybutyrate déhydrogénase (1.1.1.30).

Malate déhydrogénase (1.1.1.37).

Isocitrate déhydrogénase (1.1.1.41).

Phosphogluconate déhydrogénase (1.1.1.43).

Glucose-6-phosphate déhydrogénase (1.1.1.49).

Glycérophosphate déhydrogénase (1.1.99.5).

AGISSANT SUR LE GROUPEMENT ALDÉHYDE OU CÉTO DES DONNEURS (1.2).

— Avec NAD ou NADP comme accepteur (1.2.1).

Triosephosphate déhydrogénase (glycéraldéhyde - 3 -phosphate déhydrogénase) (1.2.1.9).

— Avec un cytochrome comme accepteur (1.2.2).

Pyruvate déhydrogénase (1.2.2.2).

AGISSANT SUR LE GROUPEMENT CH—CH DES DONNEURS (1.3).

Succinate déhydrogénase (1.3.99.1).

AGISSANT SUR LE GROUPEMENT CH—NH_2 DES DONNEURS (1.4).

— *Avec NAD ou NADP comme accepteur* (1.4.1).

Glutamate déhydrogénase (1.4.1.2).

— *Avec un oxygène comme accepteur* (1.4.3).

D-amino-acide oxydase (1.4.3.3).

Monoamine oxydase (amine-oxydase) (1.4.3.4).

Histaminase (1.4.3.6).

AGISSANT SUR NAD RÉDUIT OU NADP (1.6).

— *Avec un composé disulfure comme accepteur* (1.6.4).

Glutathion réductase (1.6.4.2).

Lipoamide déhydrogénase (diaphorase) (1.6.4.3).

— *Avec des accepteurs différents* (1.6.99).

Cytochrome C réductase (1.6.99.3).

AGISSANT SUR LES GROUPEMENTS « HEME » DES DONNEURS (1.9).

— *Avec oxygène comme accepteur* (1.9.3).

Cytochrome oxydase (1.9.3.1).

AGISSANT SUR LES DIPHÉNOLS (OU SUBSTANCES VOISINES) COMME DONNEURS (1.10).

— *Avec oxygène comme accepteur* (1.10.3).

O-Diphénol oxydase (tyrosinase) (1.10.3.1).

AGISSANT SUR LE PEROXYDE D'HYDROGÈNE COMME ACCEPTEUR (1.11).

Catalase (1.11.1.6).

Peroxydase (1.11.1.7).

II. — TRANSFÉRASES

TRANSFÉRANT LES GROUPEMENTS C (2.1).

— *Méthyltransférases ou transméthylases* (2.1.1).

Catechol méthyltransférase (2.1.1.6).

ACYLTRANSFÉRASES (2.3).

— *Acyltransférases ou transacétylases* (2.3.1).

Choline acétyltransférase (choline acétylase) (2.3.1.6).

— *Aminoacyltransférases* (2.3.2).

D-glutamyltransférase (2.3.2.1).

GLYCOSYLTRANSFÉRASES OU TRANSGLYCOSYLASES (2.4).

— *Hexosyltransférases* (2.4.1).

Glycogène phosphorylase (phosphorylase a) (2.4.1.1).

— *Pentosyltransférases* (2.4.2).

Uridine phosphorylase (2.4.2.3).

TRANSFÉRANT LES GROUPEMENTS N (2.6).

— *Aminotransférases ou transaminases* (2.6.1).

Aspartate amino-transférase (transaminase glutamique-oxaloacétique) (2.6.1.1).

Alanine amino-transférase (transaminase glutamique-pyruvique) (2.6.1.2).

TRANSFÉRANT LES GROUPEMENTS AVEC P (2.7).

— *Phosphotransférases avec un groupement alcool comme accepteur* (2.7.1).

Hexokinase (2.7.1.1).

Phosphofructokinase (2.7.1.11).

— *Phosphotransférases avec un groupement N comme accepteur* (2.7.3).

Créatine kinase (2.7.3.2).

— *Phosphotransférases avec un groupement P comme accepteur* (2.7.4).

Adénylate kinase (myokinase) (2.7.4.3).

— *Phosphotransférases avec régénération des donneurs* (2.7.5).

Phosphoglucomutase (2.7.5.1).

— *Nucléotidyltransférases* (2.7.7).

Galactose-1-phosphate uridylyltransférase (2.7.7.10).

Ribonucléase (2.7.7.16).

TRANSFÉRANT LES GROUPEMENTS AVEC S (2.8).

— *Sulfurtransférases* (2.8.1).

Thiosulfate sulfurtransférase (rhodanèse) (2.8.1.1).

— *Sulfotransférases* (2.8.2)

Aryl sulfotransférase (phénol sulfotransférase) (2.8.2.1).

III. — *HYDROLASES*

ACISSANT SUR LES LIAISONS ESTER (3.1).

- *Hydrolases d'esters carboxyliques* (3.1.1).
 - Carboxylestérase (aliestérase) (3.1.1.1).
 - Arylestérase (3.1.1.2).
 - Lipase (3.1.1.3).
 - Phospholipase A (lécithinase A) (3.1.1.4).
 - Acétylcholinestérase (3.1.1.7).
 - Pseudo-cholinestérase (3.1.1.8).
- *Hydrolases de monoesters phosphoriques* (3.1.3).
 - Phosphatase alcaline (3.1.3.1).
 - Phosphatase acide (3.1.3.2).
 - Nucléotidases (3.1.3.5).
 - Glucose-6-phosphatase (3.1.3.9).
- *Hydrolases de diesters phosphoriques* (3.1.4).
 - Phosphodiéstérase (3.1.4.1).
 - Phospholipase C (lécithinase C) (3.1.4.3).
 - Phospholipase D (lécithinase D) (3.1.4.4).
 - Deoxyribonucléase (3.1.4.5).
- *Hydrolases d'esters sulfuriques* (3.1.6).
 - Sulfatases (3.1.6.1 à 3.1.6.7).

AGISSANT SUR LES COMPOSÉS GLYCOSYL (3.2).

- *Hydrolases de glycosides* (3.2.1).
 - Amylases (3.2.1.1 à 3.2.1.3).
 - Lysozyme (muramidase) (3.2.1.17).
 - Glucosidase α (maltase) (3.2.1.20).
 - Glucosidase β (3.2.1.21).
 - Galactosidases α et β (3.2.1.22 et 3.2.1.23).
 - β -Fructofuranosidase (invertase) (3.2.1.26).
 - β -Glucuronidase (3.2.1.31).
 - Hyaluronidases (3.2.1.35 et 3.2.1.36).

AGISSANT SUR LES LIAISONS PEPTIDIQUES (3.4).

- *Hydrolases de α -amino-acyl-peptides* (3.4.1).
 - Leucine-amino-peptidase (3.4.1.1).
 - Aminopeptidases (3.4.1.2 et 3.4.1.3).
- *Hydrolases de peptidyl-amino-acides* (3.4.2).
 - Carboxypeptidase A (3.4.2.1).
 - Carboxypeptidase B (protaminase) (3.4.2.2).
- *Hydrolases de dipeptides* (3.4.3).
 - Glycyl-glycine-dipeptidase (3.4.3.1).
 - Glycyl-leucine dipeptidase (3.4.3.2).

— *Hydrolases de peptidyl peptides* (3.4.4).

Pepsines (3.4.4.1 et 3.4.4.2).

Trypsine (3.4.4.4).

Chymotrypsines (3.4.4.5 et 3.4.4.6).

Cathepsine C (3.4.4.9).

Plasmine (fibrinolysine) (3.4.4.14).

ACISSANT SUR LES LIAISONS C—N, AUTRES QUE LES LIAISONS PEPTIDIQUES (3.5).

— *Dans Amides linéaires* (3.5.1).

Glutaminase (3.5.1.2).

Amidase (3.5.1.4).

ACISSANT SUR LES LIAISONS ANHYDRIDES D'ACIDE (3.6).

— *Dans anhydrides avec phosphoryl* (3.6.1).

Pyrophosphatase (3.6.1.1).

Adénosine triphosphatase (3.6.1.3).

Apyrase (3.6.1.5).

Nucléoside diphosphatase (3.6.1.6).

ACISSANT SUR LES LIAISONS P—N (3.9).

Phosphoamidase (3.9.1.1).

IV. — *LYASES*

LYASES CARBONE-CARBONE (4.1).

— *Carboxy - Lyases* (4.1.1).

Pyruvate décarboxylase (α -carboxylase) (4.1.1.1).

— *Aldéhydes - Lyases* (4.1.2).

Fructose diphosphate aldolase (aldolase) (4.1.2.13).

LYASES CARBONE-OXYGÈNE (4.2).

— *Hydro - Lyases* (4.2.1).

Anhydrase carbonique (carbonate déhydratase) (4.2.1.1).

Fumarate hydratase (fumarase) (4.2.1.2).

Aconitate hydratase (aconitase) (4.2.1.3).

Phosphopyruvate hydratase (énolase) (4.2.1.11).

LYASES CARBONE-AZOTE (4.3).

— *Amidine - Lyases* (4.3.2).

Arginosuccinate lyase (argino - succinase) (4.3.2.1).

V. — ISOMERASES

OXYDORÉDUCTASES INTRAMOLÉCULAIRES (5.3).

— *Aldoses et cétooses* (interconversion) (5.3.1).

Glucosephosphate isomérase (phosphohexose isomérase) (5.3.1.9).

VI. — LIGASES

FORMANT DES LIAISONS C—N (6.3).

— *Amides Synthétases* (6.3.1).

Glutamine synthétase (6.3.1.2).

Les travaux déjà publiés sur les activités enzymatiques de la cornée se trouvant fréquemment réunis avec ceux relatifs aux autres milieux de l'œil et la cornée, malgré son individualité, n'étant qu'un des éléments du globe oculaire, le lecteur ne s'étonnera pas de voir ces investigations déborder quelque peu sur le cadre plus strict de nos recherches expérimentales et s'étendre parfois aux autres milieux de l'œil.

OXYDORÉDUCTASES

Les recherches de BASTIDE, 1961 (34), permettent de rapporter les travaux déjà anciens concernant les différentes enzymes réductrices au niveau des humeurs de l'œil. Sans reprendre le détail de ces recherches, nous pouvons rappeler, entre autres, les travaux de : HAYANO, 1920 (211) ; LO CASCIO, 1922 (331) ; JASINSKY, 1925 (248) ; IKEBATA, 1927 (238) ; TSUCHIGA, 1935 (532).

Des travaux plus récents mettent également en évidence diverses activités déhydroasiques au niveau des milieux oculaires :

I. — ENZYMES AGISSANT SUR LES GROUPEMENTS CH—OH DES DONNEURS

1° *Alcool déhydrogénase.*

PEARSE, 1961 (411), étudie au niveau des différentes couches de la rétine chez le Rat et le Poulet, la répartition de l'enzyme et cela, sur des yeux adaptés ou non à la lumière. En 1962, NASU et coll. (388) la mettent en évidence au niveau de la rétine humaine et KOS et SZYBINSKI (290) signalent chez l'Homme, la Vache, le Porc, une activité alcool déhydrogénasique plus facilement décelable dans la rétine en présence de NAD que de NADP. Enfin, en 1963, PFERSCH et KARLI (415) l'étudient également chez la Souris normale ou atteinte de dégénérescence héréditaire du neuro-épithélium rétinien et BAUM (54) utilisant le nitro-bleu tétrazolium comme accepteur d'hydrogène, constate chez le Lapin et le Rat, la présence d'alcool déhydrogénase au niveau de l'épithélium et de l'endothélium cornéens.

2° *Lactate déhydrogénase.*

En 1959, MUNICH (378) étudie chez l'Homme la lactate déhydrogénase de l'humeur aqueuse. KUHLMAN et KAUFMAN, 1960 (300), décèlent cette enzyme au niveau de l'humeur aqueuse seconde chez le Lapin; d'après ces auteurs, le taux de l'enzyme est abaissé chez l'animal âgé et augmenté après traumatismes.

En 1953, JAEGER (242) signale la présence notable de l'enzyme dans les cellules épithéliales de la cornée, alors que seules de légères traces sont décelées dans le stroma de l'endothélium. KINOSHITA, 1957 (263), la constate dans l'épithélium cornéen de Bœuf. KUHLMAN et RESNIK, 1958 (301), étudiant la présence de différentes enzy-

mes du catabolisme oxydatif dans la cornée et le cristallin de rats âgés de 10, 20 et 100 jours, constatent que le taux de lactate déhydrogénase augmente avec l'âge dans l'épithélium cornéen, alors qu'il diminue au niveau du stroma.

En 1959, MOORE et WORTMAN (372) localisent chez le Lapin la lactico déhydrase au niveau de l'épithélium cornéen et KUHLMAN (299), étudiant longuement chez différentes espèces la teneur enzymatique de la cornée lyophilisée, note que l'épithélium cornéen possède une richesse enzymatique qui approcherait celle des cellules du cerveau et de la rétine (333, 335); l'activité lactico déhydrasique de cet épithélium chez le Lapin est 5 à 10 fois plus importante que celle des autres tissus. La comparaison avec l'activité enzymatique de carcinome ou de sarcome (351) indique que cette dernière est loin d'être la même que celle décelée dans l'épithélium cornéen de Lapin, laquelle serait alors « comparable à une dilution au 1/50^e d'une préparation commerciale de lactico-déhydrase cristallisée ». Cette activité très intense est particulière au Lapin et se révèle 20 fois supérieure à celle constatée chez le Chat ou le Rat.

En 1960, WORTMAN et SCHNEIDER (576) signalent plusieurs variétés de déhydrogénases lactiques dans l'épithélium de la cornée de Bœuf; deux d'entre elles utilisent le NADPH_2 pour la réduction du pyruvate en lactate et à un taux moindre que le NADH_2 ; enfin, PIRIE (421) retrouve cette enzyme dans la cornée et le cristallin. En 1962, WAINSTEIN et coll. (555) constatent une augmentation du taux de l'enzyme au niveau de lésions traumatiques de la cornée et TIERI et coll. (528) signalent que des surnageants d'homogénats cornéens de Lapin, incubés de 5 minutes à 24 heures, en présence d'alpha-chymotrypsine au 1/5.000^e, présentent une inhibition de l'activité lactico déhydrasique allant de 20 à 42 p. cent.

En 1963, DELOGU et coll. (136), étudiant la lactico déhydrase du lambeau cornéen transplanté et de la cornée réceptrice, ont pu observer une diminution de l'activité enzymatique plus importante dans le greffon que dans le tissu récepteur; cette activité n'atteint une valeur normale que six mois environ après l'intervention. BAUM (54) relève la présence de l'enzyme au niveau de l'épithélium et de l'endothélium cornéens chez le Lapin et le Rat et de plus MIMURA, MORISUE et KOTZUKA (365) la retrouvent dans l'épithélium cornéen chez le Bœuf. Enfin en 1964, par voie histochimique, KAUFMAN et coll. (255) constatent la présence de l'enzyme chez le Lapin, au niveau de l'endothélium et du tiers superficiel du stroma cornéen; ces auteurs signalent, en outre, une baisse de l'activité au niveau de cornées maintenues en anoxie pendant 48 à 72 heures. De plus, MORONE (375) met en évidence la lactico déhydrase au niveau des kératocytes du stroma, de l'endothélium cornéen et des épithéliums cornéen et conjonctival.

La présence de cette enzyme a été également décelée au niveau du cristallin par WORTMAN et BECKER, 1956 (575), chez le Lapin;

DARDENNE et DRECHSLER, 1961 (114), chez l'Homme et les bovidés; KMONICEK, 1961 (275), sur des yeux de cadavres humains et FOWLKS et coll., 1964 (167), chez le Bœuf, le Chien et le Lapin.

De même différents travaux mettent en évidence cette activité enzymatique au niveau des couches de la rétine : ceux de LOWRY et coll., 1956 (333), chez le Singe et le Lapin; de PEARSE, 1961 (411), chez le Rat et le Poulet avant et après adaptation à la lumière ; de NASU et coll., 1962 (388), chez l'Homme; de PFERCH et KARLI, 1963 (415), chez la Souris normale ou atteinte de dégénérescence héréditaire du neuro-épithélium rétinien; de BONAVITA et coll., 1963 (75); GRAYMORE et coll., 1963 (197); BERKOW et PATZ, 1964 (71), chez le Rat normal ou pathologique; de DASTUCUE, BASTIDE et coll., 1963 (115), chez les bovidés.

Il est à noter également les recherches biochimiques et histo-chimiques de COLE, 1963 (105), au niveau de l'épithélium ciliaire, chez le Lapin albinos.

3° *Hydroxybutyrate déhydrogénases.*

BASTIDE, SOULA, TRONCHE et DASTUCUE, 1966 (45), signalent la présence de l' α -hydroxybutyrate déhydrogénase au niveau de la rétine de bovidés, alors qu'ils constatent son absence dans les humeurs aqueuse et vitrée.

PEARSE, 1961 (411), étudie au niveau des différentes couches de la rétine chez le Rat et le Poulet, la répartition de la β -hydroxybutyrate déhydrogénase et cela sur des yeux adaptés ou non à la lumière.

4° *Malate déhydrogénase.*

KUHLMAN et KAUFMAN, 1960 (300), constatent une activité malico déhydrogénasique au niveau de l'humeur aqueuse seconde chez le Lapin et notent une baisse de cette activité chez l'animal âgé, alors qu'une augmentation se produit après traumatismes.

JAEGER, 1953 (242), signale la présence notable de cette même activité enzymatique dans les cellules épithéliales de la cornée, alors que seules de légères traces sont décelées dans le stroma et l'endothélium. KUHLMAN, 1959 (299), relève dans la cornée lyophilisée, une activité malico déhydrogénasique d'égale intensité, chez le Lapin, le Chat ou le Rat; quoique importante, en particulier dans l'épithélium cornéen de Lapin, cette activité est cependant 25 fois moindre que celle de la lactico déhydrogénase, ce qui n'est pas le cas, par exemple, au niveau des cellules du cerveau (504). La présence de l'enzyme est également mise en évidence par BAUM, 1963 (54), dans l'épithélium et l'endothélium cornéens de Lapin et de Rat; par KAUFMAN et coll., 1964 (255), signalant en outre une baisse du taux de l'enzyme chez le Lapin au niveau de cornées maintenues en anoxie pendant 48 à 72 heures.

Quelques auteurs décèlent la malico déhydrogénase au niveau du cristallin; ainsi WORTMAN et BECKER, 1956 (575), expérimentant chez le Lapin; KMONICEK, 1961 (275), sur des yeux de cadavres humains et PAULUS et HOCKWIN, 1961 (408), sur des cobayes irradiés aux Rayons X.

De plus, au niveau de la rétine, nous relevons les travaux de LOWRY et coll., 1956 (333), chez le Singe et le Lapin; de PEARSE, 1961 (411), chez le Rat et le Poulet; de NASU et coll., 1962 (388), chez l'Homme et de BERKOW et PATZ, 1964 (71), chez le Rat, au cours du développement.

5° *Citrate et Isocitrate déhydrogénases.*

JAEGER, 1953 (242), signale la présence notable de déhydrogénase citrique dans les cellules épithéliales de la cornée; l'activité constatée dans le stroma et l'endothélium se révèle inférieure. En outre, KUHLMAN et RESNIK, 1958 (301), expérimentant sur la cornée et le cristallin de rats âgés de 10, 20 et 100 jours, notent que le taux de cette enzyme augmente avec l'âge dans l'épithélium cornéen, alors qu'il diminue au niveau du stroma.

KUHLMAN, 1959 (299), met en évidence la présence de déhydrogénase isocitrique, intense chez le Lapin, plus basse chez le Chat et le Rat, au niveau de l'épithélium cornéen lyophilisé. BAUM, 1963 (54), la retrouve chez le Lapin et le Rat, au niveau de l'épithélium et de l'endothélium cornéens. La même année, DELBRUCK (135) signale également une très haute activité isocitrate déhydrogénasique (spécifique à NADP) dans l'épithélium cornéen de Bœuf; le pourcentage d'activité constaté est supérieur à celui du foie et du cœur et MORONE, 1964 (375), rappelle la présence de l'enzyme chez le Lapin dans l'endothélium cornéen et les épithéliums cornéen et conjonctival.

La présence de déhydrogénase isocitrique est mise en évidence par MIZUKAWA et coll., 1959 (369), dans l'épithélium pigmentaire de la rétine chez le Bœuf et par PEARSE, 1961 (411), au niveau de la rétine chez le Rat et le Poulet, sur des yeux adaptés ou non à la lumière.

6° *Phosphogluconate déhydrogénase.*

LERMAN, 1959 (324), étudiant chez le Rat les facteurs enzymatiques de la cataracte expérimentale au galactose, montre que le taux de la 6-phosphogluconate déhydrogénase au niveau du cristallin reste inchangé durant vingt jours, avec un régime cataractogène. LOWRY et coll., 1961 (334), expérimentant sur le Singe et le Lapin, signalent la présence de l'enzyme dans les différentes couches de la rétine. De même, HEATH et coll., 1963 (216), chez le Rat normal ou pathologique; CALABRIA et coll., 1964 (87), chez le Veau et le Lapin.

7° *Glucose-6-phosphate déhydrogénase.*

KUHLMAN et RESNIK, 1958 (301), étudiant les enzymes du catabolisme oxydatif dans la cornée et le cristallin de rats âgés de 10, 20 et 100 jours, constatent que le taux de la glucose-6-phosphate déhydrogénase augmente avec l'âge dans l'épithélium cornéen, alors qu'il diminue au niveau du stroma. KUHLMAN, 1959 (299), note la présence de l'enzyme, intense chez le Lapin, plus basse chez le Chat et le Rat, au niveau de l'épithélium cornéen lyophilisé. En 1963, BAUM (54) la décelé dans la cornée de Lapin et de Rat et MIMURA, MORISUE et KOTZUKA (365) la retrouvent dans l'épithélium cornéen de Bœuf; de même, MORONE, 1964 (375), dans la cornée et le cristallin.

La présence de cette enzyme est signalée dans le cristallin, chez le Lapin par WORTMAN et BECKER, 1956 (575); chez le Rat par LERMAN, 1959 (324), et par KORC et CALCAGNO, 1963 (288), étudiant les variations du taux de l'enzyme, après un régime cataractogène.

De nombreux auteurs mettent également en évidence la glucose-6-phosphate déhydrogénase au niveau de la rétine : de BERARDINIS, 1959 (63), chez les bovidés; SCHIMKE, 1959 (471), chez le Lapin; LOWRY et coll., 1961 (334), chez le Singe et le Lapin; KUWABARA et COGAN, 1960 (307), chez l'Homme, le Bœuf, le Lapin, le Cobaye, le Rat, la Souris; NIEMI et MERENMIES, 1961 (390), chez le Lapin, le Cobaye, le Rat et la Grenouille; PEARSE, 1961 (411), chez le Poulet et le Rat; HEATH et coll., 1963 (216), GRAYMORE et coll., 1963 (197), chez le Rat; CALABRIA et coll., 1964 (87), chez le Veau et le Lapin et BASTIDE, TRONCHE et DASTUGUE, 1966 (46), chez les bovidés.

8° *Glycérophosphate déhydrogénase.*

BAUM, 1963 (54), MORONE, 1964 (375), par méthode histochemique, mettent en évidence chez le Lapin et le Rat la présence d' α -glycérophosphate déhydrogénase au niveau de l'épithélium et de l'endothélium cornéens et de l'épithélium conjonctival; une réaction positive est également décelée au niveau des kératocytes du stroma cornéen.

II. — ENZYMES AGISSANT SUR LE GROUPEMENT ALDEHYDE OU CETO DES DONNEURS

1° *Triosephosphate déhydrogénase* (glycéraldéhyde-3-phosphate déhydrogénase).

TIERI et coll., 1962 (526), et FORGACS, 1963 (165), constatent qu'une injection intracarotidienne ou intraveineuse d'acide iodoacétique inhibe totalement l'activité de la triosephosphate déhydrogénase de la rétine chez le Lapin.

2° *Pyruvate déhydrogénase.*

JAEGER, 1953 (242), signale la présence notable de pyruvate

déhydrogénase dans les cellules épithéliales de la cornée, alors que seules de légères traces sont décelées dans le stroma et l'endothélium.

III. — ENZYMES AGISSANT SUR LE GROUPEMENT CH—CH DES DONNEURS

Succinate déhydrogénase.

JAEGER, 1953 (242), relève la présence de succino déhydrogénase au niveau des différentes couches de la cornée. En 1957, BERCGREN (69) signale l'enzyme dans la chambre antérieure de l'œil chez le Lapin albinos, le Poulet et le Cyprin; dans l'épithélium et l'endothélium de la cornée chez le Lapin et le Poulet, alors que seules des traces sont décelées dans l'épithélium cornéen du Cyprin. La même année, MORONE (374) montre que la lyophilisation ne modifie pas cette activité enzymatique dans la cornée de Bœuf.

En 1960, KUSUNOKI (306) met en évidence une activité succino déhydrogénasique dans l'épithélium et l'endothélium cornéens de Lapin. De plus, FORGACS, 1962 (164), expérimentant à l'aide de sels de tétrazolium, relève chez l'Homme et le Lapin une intense activité au niveau de l'épithélium cornéen, du cristallin, des éléments photo-récepteurs de la rétine et du corps ciliaire. Pour BAUER, 1963 (53), une réaction fortement positive est relevée dans les cas d'ulcères cornéens et de cornées vascularisées et opaques. Enfin, MORONE, 1964 (375), signale cette même activité au niveau des différentes couches de la cornée et de l'épithélium conjonctival.

Nous pouvons citer également les travaux effectués au niveau de la rétine par PEARSE, 1961 (411), chez le Rat et le Poulet; par BERKOW et PATZ, 1961, 1964 (70, 71), chez le Lapin, le Chat, le Cobaye, le Rat et la Souris; par PFERSCH et KARLI, 1963 (415), chez la Souris normale ou pathologique.

Signalons de plus, en 1963, les recherches de VIRMAUX et MANDEL (552) sur les cristallins de bovidés; de COLE (105), de CAMERON et COLE (89) sur l'épithélium ciliaire chez le Lapin albinos.

Etudiant, en général, l'importance des systèmes déhydrasiques dans la pathologie de la cornée, avec le chlorure de triphényltétrazolium comme accepteur d'hydrogène, KOHLER et coll., 1952 (279, 280), montrent l'inhibition complète provoquée par l'acide salicylique, l'acide acétylsalicylique et l'acide iodoacétique et constatent que l'acétate de désoxycorticostérone influence favorablement l'activité déhydrasique de la cornée isolée de Veau. JAEGER, 1953 (243, 244), examine l'inhibition des activités déhydrasiques de la cornée, causée par les acides (HCl , SO_4H_2 , NO_3H), les alcalis (KOH , NaOH), les venins, les mydriatiques, les myotiques, les anesthésiques, les bactériostatiques. D'après cet auteur, « cette inhibition provoque une réaction inflammatoire qui peut être l'origine d'une kératite ».

IV. — ENZYMES AGISSANT SUR LE GROUPEMENT CH—NH_2 DES DONNEURS

1° *Glutamate déhydrogénase.*

PEARSE, 1961 (411), étudie au niveau des différentes couches de la rétine, chez le Rat et le Poulet, la répartition de la déhydrogénase glutamique; de même, NASU et coll., 1962 (388), au niveau de la rétine humaine. En 1963, BAUM (54) signale la présence de cette enzyme dans l'épithélium et l'endothélium cornéens, chez le Lapin et le Rat.

2° *D-Amino-acide oxydase.*

Etudiant le métabolisme des acides aminés dans les tissus oculaires, de VINCENTIUS et AURICCHIO, 1950 (549), notent la présence d'amino-acide oxydase dans la cornée, le cristallin, la rétine et la choroïde. TSUNEMACHI, 1955 (533), HOTTA et coll., 1959 (232), par méthode manométrique, mettent en évidence l'activité de la d-amino-acide oxydase au niveau de la rétine, activité diminuant sous l'action de la lumière.

3° *Monoamine oxydase.*

En 1954, BURN et coll. (85) constatent que la dégénérescence des fibres sympathiques de l'iris chez le Chat ne provoque pas de changement dans le taux d'amine-oxydase au niveau de cet organe. KOJIMA et coll., 1959 (282), étudient à l'aide de la méthode de Glenner modifiée, les variations de la monoamine oxydase dans les rétines en conditions normales ou après sidérose expérimentale du bulbe; en 1961, à l'aide de méthodes histochimiques, ces mêmes auteurs (283) constatent chez l'Homme la présence de l'enzyme dans la couche la plus superficielle de l'épithélium cornéen; dans la rétine, au niveau des cellules ganglionnaires, des fibres de Muller et des segments les plus internes des cellules visuelles; dans l'iris et également dans le corps ciliaire. KRISHNA et coll., 1961, 1962 (297, 298), utilisant une méthode manométrique, décèlent chez le Chat ou le Lapin la présence de monoamine oxydase dans la cornée, l'iris, le corps ciliaire, le nerf optique, la rétine, la choroïde; le pourcentage relevé au niveau du cristallin est faible. Ces auteurs notent, en outre, une inhibition totale de l'activité par l'iproniazide; ce fait a été constaté également par ERANKO et coll., 1961 (156), étudiant la répartition histochimique de l'enzyme dans la rétine de Souris.

En 1964, SHANTHAVEERAPPA et BOURNE (487), par voie histochemique, examinent chez le Lapin albinos la répartition de la monoamine-oxydase. Ils obtiennent une réaction fortement positive dans l'endothélium cornéen, l'iris et les différentes couches de la rétine; faiblement positive au niveau de l'épithélium cornéen, de la choroïde et de la conjonctive; négative dans le stroma, la membrane de Descemet et la sclérotique. La même année, WALTMAN et SEARS

(559) montrent chez le Lapin albinos une activité monoamine oxydase très intense dans l'iris et le corps ciliaire, plus faible dans la rétine, la choroïde, le nerf optique, le muscle extraoculaire et pratiquement nulle au niveau du cristallin. La suppression des nerfs correspondants réduit faiblement le taux de cette enzyme.

4° *Histaminase.*

Etudiant l'activité histaminasique des tissus oculaires, AURICCHIO, 1955 (22), la signale au niveau de l'uvée et de la rétine; la cornée et le cristallin ne présentent qu'une activité très faible ou même nulle selon les espèces. AMSLER, VERREY et HUBER, 1955 (12), constatent également la présence d'histaminase dans les tissus de l'uvée antérieure.

V. — *ENZYMES AGISSANT SUR NAD REDUIT OU NADP*

1° *Glutathion réductase.*

FUJIMOTO, 1953 (184), note la présence de glutathion réductase au niveau du cristallin de Lapin; l'activité de cette enzyme serait partiellement réduite par le nitrate d'argent, l'uréthane et l'arsénite de sodium. En 1959, KUHLMAN (299) signale une activité glutathion réductasique de même intensité dans des extraits d'épithéliums cornéens lyophilisés de Lapin, Chat et Rat et KUHLMAN et RESNIK (302), étudiant cette même activité chez le Lapin au niveau de la cornée et du cristallin, constatent que l'irradiation aux Rayons X n'altère pas la teneur enzymatique de ces tissus.

PIRIE, 1960 (421), rapporte également l'activité de la glutathion réductase dans la cornée et le cristallin et KARKELA et MIETTINEN, 1961 (253), observent que cette activité est inversement proportionnelle au degré de maturité de la cataracte et qu'elle tombe à un minimum avant l'opacification complète du cristallin.

2° *Lipoamide déhydrogénases (diaphorases).*

En 1960, par voie histochimique, KUSUNOKI (306) signale dans la cornée de Lapin une activité NAD diaphorase intense au niveau du stroma alors que la faible réaction obtenue pour la NADP diaphorase se manifeste de façon inconstante sous la basale de l'épithélium et IGA et coll. (236) notent également ces deux activités au niveau du cristallin et du corps ciliaire.

En 1963, BAUM (54), étudiant chez le Lapin et le Rat les différentes enzymes respiratoires de la cornée, met en évidence les activités NAD et NADP diaphorases au niveau de l'épithélium, de l'endothélium et des kératocytes et FORGACS (165) retrouve ces mêmes activités dans l'épithélium du cristallin chez le Rat, alors que la réaction obtenue dans la capsule proprement dite est négative.

En 1964, chez le Lapin, MORONE (375) signale pour ces enzymes une réaction d'intensité maxima au niveau de l'épithélium conjonctival, de l'épithélium et de l'endothélium cornéens alors que la réaction mise en évidence au niveau des kératocytes présente une faible positivité; cet auteur note que l'activité relevée au niveau de la conjonctive est supérieure à celle de la cornée. La même année, KAUFMAN et coll. (255) les signalent dans la cornée chez le Lapin, au niveau du stroma et de l'endothélium. D'après ces auteurs, une baisse de ces activités enzymatiques est constatée au niveau de cornées maintenues en anoxie pendant 48 à 72 heures.

De même, BERKOW et PATZ, 1961, 1964 (70, 71), KOJIMA et coll., 1962 (284), localisent la NAD diaphorase dans la rétine chez le Rat, principalement au niveau des photorécepteurs et de l'épithélium pigmentaire et NASU et coll., 1962 (388), relèvent la présence de NADH phosphate diaphorase au niveau des différentes couches de la rétine humaine.

3° *Cytochrome C réductase.*

En 1961, les travaux de LERMAN (325, 326), de LERMAN et HEGGENESS (327) montrent l'importance de la cytochrome C réductase dans la pathogénie de la cataracte expérimentale chez le Rat.

VI. — ENZYMES AGISSANT SUR LES GROUPEMENTS « HEME » DES DONNEURS

1° *Oxydase.*

Les travaux très anciens de LO CASCIO, 1922 (331), permettent déjà de mettre en évidence une activité oxydasique au niveau des humeurs de l'œil. Par la suite, la présence d'oxydase est signalée par MARQUARDT, 1951 (341), au niveau des cellules de l'épithélium cornéen et, de plus, dans le cristallin, la choroïde, la rétine, le nerf optique et les humeurs de l'œil chez le Bœuf, le Chien, le Chat et le Cobaye; cet auteur décele également cette activité enzymatique chez l'Homme et le Bœuf, au niveau des glandes lacrymales.

2° *Cytochrome oxydase.*

ROBBIE et coll., 1947 (445), DUANE, 1949 (150), LANGHAM, 1951 (309), étudiant certains aspects de la respiration cornéenne, mettent en évidence la présence du système cytochrome-cytochrome oxydase. MORONE, 1957 (374), signale que la lyophilisation ne change pas l'activité cytochrome oxydasique de la cornée de Bœuf. Cette même activité est également décelée à l'aide de la réaction de Nadi, par YAMAMOTO et coll., 1958 (579), au niveau de l'épithélium cornéen, du cristallin, du corps ciliaire, de la rétine et de la choroïde chez le Lapin.

En 1960, PIRIE (421) signale la présence de l'enzyme dans la cornée et GONZALES COSTEA et coll. (196) constatent dans la cornée normale chez l'Homme une activité cytochrome oxydasique limitée

aux couches basale et moyenne de l'épithélium, alors que dans la cornée pathologique, dans les cas de leucome en particulier, cette activité devient plus intense et s'étend notamment à la couche superficielle épithéliale et au stroma.

BONAVOLONTA, 1953 (76), mesure l'activité respiratoire du cristallin à l'aide de la méthode manométrique de Warburg et constate dans les cas de cataracte, une réduction de l'activité cytochrome oxydasique alors que s'élève la quantité d'oxygène présente dans l'humour aqueuse.

En 1952, BOTTINO (81) détermine au niveau de la rétine de Rat, après administration de riboflavine, un taux de cytochrome oxydase inchangé par rapport à un animal témoin. Par la suite, MIZUKAWA et coll., 1959 (369), et de BERARDINIS, 1960 (65), notent la présence de l'enzyme dans l'épithélium pigmentaire de la rétine chez le Bœuf. En 1961, BERKOW et PATZ (70), NIEMI et MERENMIES (390), ERANKO et coll. (156) relèvent chez différentes espèces de vertébrés la présence de l'enzyme dans la rétine, au niveau des couches plexiformes, des cellules ganglionnaires et des cellules photoréceptrices.

VII. — ENZYMES AGISSANT SUR LES DIPHENOLS (OU SUBSTANCES VOISINES) COMME DONNEURS

1° *Indophénol oxydase.*

En 1938, OGIHARA (400) signale la présence d'indophénol oxydase au niveau de l'épithélium cornéen, par contre la réaction de Nadi est négative dans le stroma, les membranes de Bowman et de Descemet et le nerf optique; quant à l'endothélium, la réaction obtenue est variable selon les espèces, positive chez l'Homme, négative chez le Porc. Les recherches de SULLMANN, 1951 (510), permettent de mettre en évidence l'indophénol oxydase au niveau de l'épithélium cornéen chez le Porc et de l'endothélium de la cornée humaine. Cet auteur note également la présence de l'enzyme dans l'épithélium conjonctival chez l'Homme, dans le corps ciliaire et l'épithélium irien chez le Lapin, alors qu'il constate son absence dans la sclérotique, le cristallin et la choroïde.

2° *Tyrosinase.*

MARQUARDT, 1951 (341), signale la présence de tyrosinase dans l'uvée et sa recherche dans la rétine et la choroïde.

3° *Dopaoxydase.*

SULLMANN, 1951 (510), rappelle la présence de dopaoxydase dans l'épithélium pigmentaire de la rétine et de la choroïde chez les Oiseaux, mais seulement au début du développement embryonnaire; l'enzyme est également signalée au niveau du corps ciliaire.

VIII. — ENZYMES AGISSANT SUR LE PEROXYDE D'HYDROGENE COMME ACCEPTEUR

1° *Catalase.*

Dès 1904, LIEBERMANN (330) décèle la présence de catalase dans le cristallin; de plus, LO CASCIO, 1922 (331), relève des traces d'enzyme au niveau des humeurs de l'œil. Par la suite, ZELLER, 1953 (580), l'étudie au niveau du cristallin et de CONCLIS, 1957 (109), cherchant à déterminer, à l'aide de méthodes titrimétriques et manométriques, la présence de catalase dans les tissus et liquides oculaires chez différentes espèces, constate une activité maxima dans la rétine, alors qu'elle se révèle beaucoup plus faible au niveau de la cornée et des humeurs de l'œil; cet auteur range par ordre décroissant d'activité : Cheval, Porc, Veau et Mouton.

En 1960, IRVINE (239) signale chez l'Homme et le Lapin une baisse de l'activité catalasique au niveau de cristallins cataractés et Kos et SZYBINSKI, 1962 (290), décèlent chez l'Homme, la Vache et le Porc une faible activité au niveau de la rétine et du nerf optique. Enfin, récemment, BASTIDE, TRONCHE et DASTUGUE, 1967 (47), relèvent chez les bovidés la présence de catalase au niveau de la rétine et de l'humeur vitrée, alors que seules des traces d'enzyme sont décelées dans l'humeur aqueuse.

2° *Peroxydase.*

Etudiant différentes activités enzymatiques au niveau de la cornée, FRANÇOIS et RABAEY, 1954 (172), constatent l'activité peroxydasique de l'épithélium cornéen chez le Bœuf.

TRANSFÉRASES

Les transférases sont des enzymes qui catalysent le transfert d'un groupement d'un métabolite à un autre. Selon le radical transféré, nous pouvons distinguer : les méthyltransférases, les acyltransférases, les glycosyltransférases, les aminotransférases, les phosphotransférases, les sulfur et sulfotransférases.

I. — METHYLTRANSFERASES

Etudiant les processus de transméthylation au niveau des tissus oculaires, de VINCENTIUS et de BERARDINIS, 1950 (550), notent la conversion d'acide guanidine-acétique en créatine dans la rétine et, à un degré moindre, dans la cornée. Quelques années plus tard, CIUSA et coll., 1957, 1963 (99, 100), constatent une méthylation et une amidation de l'acide nicotinique au contact de cristallins de bovidés. De plus, WALTMAN et SEARS, 1964 (559), expérimentant à l'aide de tracés radio-actifs, déterminent chez le Lapin albinos la présence de catéchol-o-méthyltransférase au niveau de : rétine, choroïde, iris, corps ciliaire, cristallin et nerf optique; d'après ces auteurs, l'enzyme jouerait un rôle dans l'inactivation des catécholamines circulantes.

II. — ACYLTRANSFERASES

1° *Choline acétylase.*

Expérimentant sur le Chat et le Lapin, de ROETHH, 1950 (452), décèle la présence de choline acétylase dans la rétine, l'iris et le corps ciliaire. L'enzyme est également mise en évidence par ALPHEN, 1957 (4), dans les cellules épithéliales de la cornée; par PETERSEN et coll., 1965 (414), dans l'épithélium et l'endothélium cornéens chez le Lapin et par ROSENBERG et coll., 1966 (459), qui constatent une activité relativement élevée dans la rétine de Calmar. En général, cette activité choline acétylasique est approximativement proportionnelle à l'activité cholinestérasique trouvée dans ces mêmes tissus.

2° *Glutamotransférase.*

RUDNICK et coll., 1955, 1956 (460, 461) et MOSCONA et coll., 1963 (376), notent dans la rétine d'embryon de Poulet une activité glutamotransférasique peu intense jusqu'au 17^e jour de l'incubation; cette activité augmente ensuite rapidement et continue à progresser pendant quelques jours après l'éclosion.

III. — GLYCOSYLTRANSFERASES

1° *Phosphorylase.*

Les travaux de OHASHI, 1960 (401), mettent en évidence par voie histochimique la présence de phosphorylase dans certains tissus oculaires du Lapin. Après injection sous-conjonctivale de cortisone, cet auteur ne constate pas de changement bien défini de l'activité de l'enzyme au niveau de la cornée, alors que, dans la rétine, cette activité diminue tout d'abord pour augmenter ensuite et atteindre un maximum après 24 heures. Une aiguille métallique implantée dans le corps vitré provoque une diminution rapide de cette activité enzymatique au niveau de la rétine.

TETERWAK-WŁODARSKA et coll., 1963 (523), expérimentant chez l'Homme, le Lapin, le Cobaye, le Hamster, le Rat et la Souris, constatent que le glycogène est uniformément distribué dans les parties périphérique et centrale de l'épithélium cornéen. Une semblable distribution se retrouve pour la phosphorylase, excepté dans les cornées de Rat et de Hamster qui révèlent seulement une activité très faible dans les cellules épithéliales basales. En général, l'activité phosphorylasique est plus prononcée dans la région limbique de la cornée; ceci est probablement en relation avec la proximité des vaisseaux sanguins du cercle périkeratique.

Par chromatographie, KAMEI, 1960 (251), constate au niveau du cristallin la présence de l'enzyme dont l'activité diminue dans les cas de cataracte.

NAGAYA, 1954 (387), met en évidence une activité phosphorylasique dans les rétines de Poulet et de Grenouille et LENTI, 1956 (322), fait état d'une transphosphorylase dans la rétine de Bœuf. Par voie histochimique, VIALE et coll., 1962 (541), étudiant la localisation de l'amylophosphorylase dans la rétine humaine, constatent une activité particulièrement prononcée dans la couche plexiforme; d'après ces auteurs, cette localisation correspond à celle du glycogène. De même, HUTCHINSON et coll., 1962 (234), et KURIMOTO et coll., 1963 (305), démontrent la présence de phosphorylase dans les segments les plus profonds de la rétine, respectivement chez l'Homme, le Veau, le Cobaye, le Lapin, le Chat et le Rat.

DISCHE, 1957 (142), rappelle la présence de phosphorylase dans les procès ciliaires chez le Lapin albinos.

2° *Uridine-5-diphosphoglucose transférase.*

TETERWAK-WŁODARSKA et coll., 1963 (523), décèlent une très basse activité de l'uridine-5-diphosphoglucose transférase au niveau de l'épithélium cornéen.

IV. — AMINOTRANSFERASES

Les aminotransférases catalysent le transfert du radical $-\text{NH}_2$ d'un aminoacide sur un acide céto-carbonique.

Aspartate amino-transférase, Alanine amino-transférase (transaminases G.O.T. et G.P.T.).

Différents travaux ont permis de noter la présence de ces enzymes au niveau des tissus et humeurs de l'œil. Ainsi, SABURO, 1951 (462), et HAYANO, 1955 (212), constatent la présence des transaminases G.O.T. et G.P.T. dans la rétine de Grenouille. En 1958, BONAVOLONTA (77) les signale dans la rétine et le cristallin de Bœuf; par contre, cet auteur ne décèle aucune activité enzymatique dans les humeurs de l'œil. D'après TESTA, 1960 (522), l'épithélium de la cornée serait l'unique tissu oculaire où se trouvent à la fois les transaminases G.O.T. et G.P.T.; selon cet auteur la cornée posséderait, dans ce cas précis, un métabolisme plus actif que la rétine et le cristallin dans lesquels l'activité G.P.T. serait absente. La même année, MUTOH (380) note également une activité transaminasique G.O.T. dans les milieux oculaires du Lapin albinos et range par ordre décroissant d'activité : rétine, choroïde, iris, corps ciliaire, cornée, cristallin, humeur aqueuse et BONAVOLONTA et TESTA (79) déterminent chez le Bœuf et le Lapin une légère augmentation de cette même activité au niveau de rétines adaptées à l'obscurité, respectivement *in vitro* et *in vivo*. Par la suite, BASTIDE, 1961 (34), BASTIDE, TRONCHE, MEUNIER, BALLADE et DASTUGUE, 1961 (48) constatent dans l'humeur vitrée de bovidés une activité transaminasique G.O.T. 4 à 5 fois supérieure à celle de l'humeur aqueuse, alors que l'activité G.P.T., beaucoup plus faible, est sensiblement du même ordre de grandeur dans les deux humeurs.

En 1962, KIRSTEN et DARDENNE (273) notent la présence de ces deux activités enzymatiques dans les cristallins de Veau et de Vache et BASTIDE, MEUNIER et DASTUGUE (44) décèlent une activité G.O.T. particulièrement élevée dans la rétine de bovidés, alors que l'activité G.P.T. ne représente que le 1/50^e de la précédente; il ne semble pas y avoir de variations sensibles de ces activités avec l'âge des animaux. Enfin, MIMURA et coll., 1963 (365) signalent ces deux activités enzymatiques au niveau de l'épithélium cornéen chez les bovidés également.

V. — PHOSPHOTRANSFERASES

1° Hexokinase, Phosphofructokinase.

KUHLMAN et RESNIK, 1958 (301), étudiant la présence d'hexokinase dans la cornée et le cristallin de rats âgés de 10, 20 et 100 jours, constatent que l'activité, élevée pendant les premiers stades après la naissance, diminue légèrement par la suite. De plus, KUHLMAN, 1959 (299) décèle une activité hexokinasiqne d'intensité à peu près équivalente chez le Lapin, le Chat et le Rat, au niveau de l'épithélium cornéen lyophilisé. En 1960, de BERARDINIS (64) et KONEKO (285) l'étudient au niveau de la rétine respectivement chez le Bœuf et le Lapin. Par voie histo-chimique, LOWRY et coll., 1961 (334) constatent que l'activité hexokinasiqne est moins intense chez le Lapin que chez le Singe au niveau des segments les plus

internes des cônes et des bâtonnets; ces auteurs y décèlent en outre, la présence de phosphofructokinase.

2° *Phosphoglucomutase.*

LOWRY et coll., 1961 (334), TIERI et coll., 1961 (527), VECCHIONE et coll., 1962 (537) mettent en évidence la présence de phosphoglucomutase au niveau de la rétine, respectivement chez le Singe et le Lapin.

3° *Galactose - 1 - phosphate uridyl transférase, Ribonucléase.*

Dans les cas de galactosémie congénitale, IRVINE, 1960 (239) décèle dans le cristallin, une galactose - 1 - phosphate uridyl transférase qui assure la conversion du galactose en glucose. ZIGMAN et coll., 1963 (585) ne peuvent distinguer la présence de ribonucléase dans des cristallins de rats normaux, alors que des rats atteints de cataracte présentent une très légère activité.

VI. — SULFUR ET SULFOTRANSFERASES

1° *Thiosulfate sulfurtransférase (rhodanèse).*

ALAJMO, 1957 (3) décèle la présence de rhodanèse dans le cristallin et la rétine de Bœuf. De CONCILIIIS, 1957 (110), note une faible activité trans-sulfurasique S au niveau des humeurs de l'œil chez le Bœuf.

2° *Aryl sulfotransférase (phénol sulfotransférase).*

En 1961, WORTMAN (572) met en évidence dans des extraits d'épithélium cornéen de Bœuf, une phénol sulfotransférase dont le pH d'activité optima est de 7,0.

3° *Kérato sulfotransférase.*

WORTMAN, 1964 (574) signale une activité kérato sulfotransférase faible mais cependant bien décelable dans des extraits d'épithélium cornéen de Bœuf.

HYDROLASES

Les hydrolases sont des enzymes qui décomposent les molécules d'un substrat avec fixation d'eau au niveau du point de rupture.

I. — *HYDROLASES D'ESTERS CARBOXYLIQUES*1° *Lipases-aliestérases.*

Les lipases régissent l'hydrolyse ou la synthèse des corps gras en glycérol et acides gras. Les activités lipasiques ont surtout fait l'objet d'études au niveau des humeurs de l'œil; ainsi, HAYANO, 1920 (211) ne constate aucune activité lipasique ou lécithinasique au niveau de l'humeur aqueuse de Bœuf ou de Lapin; IKEBATA, 1927 (238) met en évidence une tributyrinase dans l'humeur aqueuse de Lapin et LEBENSOHN, 1933 (318) fait état d'une monobutyrynase qui avait déjà été signalée en 1922 par LO CASCIO (331) dans l'humeur aqueuse chez le Lapin. Plus récemment, SULLMANN, 1951 (510) constate l'hydrolyse de la tributyrine en présence de corps vitré de Cheval, Bœuf, Mouton et Chèvre et PAU, 1958 (407) mentionne également une activité lipasique des humeurs de l'œil.

En ce qui concerne ces activités enzymatiques au niveau des tissus oculaires, nous pouvons citer les travaux de BERARDINIS et de VINCENTHS, 1950 (67) qui signalent que la cornée de Lapin contient apparemment les enzymes nécessaires à l'hydrolyse des esters d'acides gras. Quelques années plus tard, ZELLER, 1956 (531) rapporte l'activité aliestérasique des yeux de bétail et HATTORI, 1956 (210) mentionne la présence de lipases dans la rétine, la choroïde, l'iris, la cornée et le cristallin. De plus, BERGGREN, 1957 (69) par localisation histo-chimique, met en évidence une activité estérasique dans les cellules épithéliales de la cornée chez l'Homme, le Lapin, le Poulet et le Cyprin; cet auteur constate également la présence de l'enzyme chez l'Homme, le Lapin et le Poulet au niveau des tissus suivants: endothélium cornéen, membrane conjonctive, uvée, épithélium ciliaire et iris. Enfin, MIMURA et coll., 1963 (365) rappellent l'activité estérasique de l'épithélium cornéen chez le Bœuf.

2° *Cholinestérases.*

Les cholinestérases sont des enzymes qui hydrolysent les esters de la choline. Nous pouvons distinguer la cholinestérase vraie, spécifique et les pseudo-cholinestérases, non spécifiques.

Pour l'étude des différentes activités cholinestérasiques au niveau des humeurs de l'œil, nous renvoyons le lecteur au mémoire de BASTIDE, 1961 (34). Sans reprendre le détail de ces recherches, nous pouvons rappeler cependant les travaux de PLATTNER et HINTER, 1930 (424); ENGELHART, 1931 (153); VELHAGEN, 1931 (538); UVNAS et WOLF, 1938 (536); WEVE et FISCHER, 1939 (563); BRÜCKNER, 1943 (84); JAFFE, 1948 (245); SUGAWARA, 1953 (507); VIIKARI, 1955 (542).

De très nombreux auteurs ont pu également constater une activité cholinestérasique dans les tissus oculaires et particulièrement au niveau de la rétine où l'enzyme est électivement concentrée.

Parmi ceux-ci, PLATTNER et HINTER, 1930 (424), BAKKER, 1938 (25) décèlent cette activité dans l'iris de Lapin et ARMSTRONG, 1942 (18) note la présence de cholinestérase dans la cornée et le sphincter pupillaire de l'œil énucléé d'Amphibien. La même année, HERRMANN et FRIEDENWALD (219) obtiennent en mg d'acétylcholine hydrolysés par gramme de tissu et par heure, au niveau du corps ciliaire chez le Porc : 20 et chez le Bœuf : 4; BRÜCKNER, 1943 (84) obtient respectivement chez le Bœuf, rétine : 95, iris : 32, corps ciliaire : 16; chez le Veau et le Cheval, rétine : 93 et 79 alors que précédemment, NACHMANSOHN, 1938 et 1940 (385, 386) avait décelé des taux quelque peu supérieurs dans les rétines de Bœuf : 160, de Chien : 154 et d'embryon de Mouton : 146. Quelques années plus tard, BRÜCKE et coll., 1949 (83) trouvent chez le Lapin une activité cholinestérasique 3 fois plus importante dans les cellules épithéliales de la cornée que dans le stroma.

De plus, de ROETH, 1950 (453) détermine la présence de l'enzyme dans les tissus oculaires chez plusieurs espèces. Exprimant également ses résultats comme les différents auteurs précités, il obtient respectivement chez le Lapin, rétine : 130, iris : 28, corps ciliaire : 28. Dans la rétine, les valeurs trouvées sont du même ordre de grandeur selon les différentes espèces; Coq : 183, Chat : 160, Lapin : 130, Chien : 125; alors que dans le corps ciliaire, ces valeurs sont beaucoup plus élevées chez le Chat : 227 et le Chien : 124. Ce même auteur différencie également la présence de cholinestérase spécifique et de pseudo-cholinestérase dans les milieux oculaires; il est ainsi possible de démontrer la présence d'enzyme spécifique dans l'iris, le corps ciliaire chez le Lapin; l'iris, le corps ciliaire, l'humeur aqueuse et l'humeur vitrée chez le Bœuf; l'iris chez le Cheval; l'iris et le corps ciliaire chez le Chat; la rétine chez le Chien, le Chat, le Lapin, le Bœuf et le Cheval alors qu'une pseudo cholinestérase est décelée au niveau du corps ciliaire de Cheval et de l'humeur aqueuse seconde chez le Chat. Il est probable que l'enzyme présente au niveau des humeurs de l'œil chez le Bœuf, provient de l'iris, du corps ciliaire et de la rétine.

Par la suite, KOELLE et coll., 1950 et 1952 (277, 278) étudiant la localisation histo-chimique des différentes cholinestérases chez le Lapin et le Chat, notent la présence d'enzyme spécifique dans la rétine, le nerf optique, le muscle ciliaire et constatent l'absence de

pseudo-cholinestérase dans ces mêmes tissus. Ces auteurs trouvent la plus forte activité cholinestérasique dans la rétine, au niveau des cellules bipolaires et dans les régions proches des filets nerveux. Dans les yeux de différentes espèces animales, MINAMI, 1951 (366) observe l'activité cholinestérasique la plus intense au niveau de la rétine et des muscles de l'œil; l'iris, la choroïde et le corps ciliaire possèdent une activité moindre. En 1952, ce même auteur (367) à l'aide du test d'Hestrin, mesure l'activité cholinestérasique des rétines de sept espèces de vertébrés; il obtient en mg d'acétylcholine hydrolysés par gramme de tissu et par heure à 37° C, Vache: 181, Chien: 174, Poulet: 128, Chèvre: 119, Lapin: 83, Homme: 70, Chat: 63. De plus, expérimentant sur l'organe visuel de Mollusque, cet auteur constate que la couche correspondant à la rétine profonde, possède une activité environ 30 fois supérieure à celle des rétines de vertébrés. Signalons également en 1953, les travaux de HEBB et coll. (217) qui confirment la forte activité cholinestérasique de la rétine et du nerf optique chez le Lapin; de FRANCIS (168), qui signale la présence de l'enzyme dans la rétine chez le Porc, le Mouton, le Lapin, le Cobaye, le Rat, le Poulet, le Pigeon, la Grenouille et le Vairon.

Par la suite, de VINCENTIIS, 1955 (548) étudie l'influence de l'enzyme dans les cas de décollement de la rétine et CAPURRO et coll., 1959 (91, 92), constatent également la présence de cholinestérase dans la rétine de Léopard, Tortue et Cobaye; chez ce dernier, les auteurs notent une activité plus importante dans l'obscurité par rapport à celle décelée pendant une excitation lumineuse; par contre, OSTROVSKIJ, 1961 (403), signale chez la Grenouille une activité semblable dans les rétines adaptées à l'obscurité ou à la lumière et LIBERMAN, 1962 (329), fait ressortir que l'activité cholinestérasique totale des rétines de rats élevés dans l'obscurité jusqu'à 17 semaines, est inférieure de 19 p. cent à celle de rats élevés normalement. Par voie histochimique, RAVIOLA et coll., 1963 (433), expérimentant sur la rétine de Lapin, notent à la naissance une faible activité acétylcholinestérasique spécialement localisée dans la couche plexiforme; cette activité augmente du 6^e au 8^e jour et diminue légèrement chez l'adulte. ESILA, 1964 (158), constate que l'activité de l'acétylcholinestérase se manifeste dans la couche interne plexiforme de la rétine chez différentes espèces: Homme, Cheval, Vache, Chien, Chat, Lapin, Cobaye et Rat et PETERSEN et coll., 1965 (414), signalent une intense activité acétylcholinestérasique dans les cellules basales de l'épithélium cornéen chez le Lapin. La concentration en enzyme est seulement réduite, mais non supprimée, par résection des nerfs; cela démontre que l'acétylcholine est un composant des cellules épithéliales et que sa présence n'est pas en rapport absolu avec la richesse de l'innervation cornéenne.

II. — HYDROLASES D'ESTERS SALICYLIQUES

— *Salicyl-estérase.*

L'hydrolyse enzymatique des esters salicylés ne paraît pas avoir

été étudiée dans les milieux oculaires au cours de travaux antérieurs. Notons cependant les recherches récentes de BASTIDE, TRONCHE, MEUNIER et DASTUGUE, 1964 (49), qui signalent au niveau de la rétine de bovidés une activité aspirine-estérasique relativement élevée.

III. — *HYDROLASES DE MONOESTERS PHOSPHORIQUES*

Les phosphomonoestérases sont des enzymes qui catalysent l'hydrolyse des monoesters de l'acide orthophosphorique en acide phosphorique et en alcool ou phénol. Nous sommes amenés à considérer successivement les phosphatases alcalines et les phosphatases acides en fonction du pH optimum de leur action et ensuite les phosphomonoestérases spécifiques.

1° *Phosphatases alcalines.*

Très nombreux sont les travaux qui sont venus souligner l'activité phosphatasique alcaline au niveau des différents tissus de l'œil. Dès 1947, TAYLOR, GOLDSMITH et BEVELANDER (519) décelent des traces de cette enzyme au niveau du stroma dans la cornée normale mais attribuent à la présence de lymphocytes l'importante activité phosphatasique alcaline constatée dans la membrane, à la suite de lésions diverses. La même année, SULLMANN (508), à l'aide de la technique de Gomori, met en évidence une activité phosphatasique alcaline dans les cellules du stroma, de l'épithélium et de l'endothélium de la cornée de Veau, Porc, Lapin et Rat. Peu après, SULLMANN et PAYOT, 1949 (511), notent parfois des résultats différents selon l'espèce considérée. La réaction est positive dans les cellules endothéliales de la cornée de Rat, alors qu'elle est négative chez le Veau, le Bœuf ou le Lapin. De plus, ces auteurs ne peuvent mettre en évidence une activité phosphatasique alcaline dans la cornée de Porc.

Toujours à l'aide de la technique de Gomori, FRANÇOIS et RABAEY, 1951 (169), étudient longuement la répartition de la phosphatase alcaline dans les yeux de certains Mammifères. Ces auteurs obtiennent une réaction positive dans les cellules épithéliales de la cornée de Vache, Souris, Porc et Lapin; une réaction négative dans les cellules de l'endothélium et du stroma, excepté chez le Porc où de légères traces d'enzyme sont décelées, mais uniquement au niveau de la région limbique du stroma. La cornée humaine ne contient pas de phosphatase alcaline. En général, le cristallin n'en renferme pas ou peu, les cellules épithéliales seules en possèdent et la présence d'enzyme dans la rétine semble en contradiction avec son absence dans le tissu nerveux proprement dit.

Les travaux entrepris par REIS, 1951 (437), sur les tissus oculaires humains, permettent de mettre en évidence une activité phosphatasique alcaline dans la rétine, la choroïde et l'iris, alors que la réaction obtenue est négative dans la cornée, la sclérotique et le cristallin.

IDA, 1955 (237), est le premier auteur qui ait noté les avantages et les inconvénients des procédés histochimiques variés pour démontrer la présence de phosphatase alcaline dans la cornée; d'après ses travaux, il ressort que la quantité d'enzyme présente dans la cornée chez l'embryon de Poulet, augmente après le 13^e jour d'incubation.

Quelques années plus tard, BERGGREN, 1957 (69), décèle une activité phosphatasique alcaline dans l'épithélium de la cornée chez le Lapin et le Cyprin, dans l'endothélium chez le Poulet et le Lapin, mais seulement à l'état de traces chez ce dernier. MORONE, 1957 (374), étudiant l'action de la lyophilisation sur la teneur enzymatique de la cornée de Bœuf, constate la disparition de l'activité phosphatasique alcaline. Les recherches histochimiques de SZWARC, 1957 (513), mettent en évidence une activité phosphatasique dans l'épithélium de la cornée; une quantité importante d'enzyme est trouvée après kératoplastie et la participation active des phosphatases dans le processus de cicatrisation de la cornée semble évident quoique leur rôle ne soit pas bien défini.

Par la suite, SCULLICA et coll., 1959 (478), décèlent l'enzyme à haute concentration au niveau des procès ciliaires de Lapin albinos; de même, de VINCENTIIS et TESTA, 1959 (551), dans l'épithélium cornéen, la rétine et la choroïde. MENNA, 1960 (353), constate une baisse du taux de cette enzyme dans le cristallin, l'uvée, la cornée et la rétine chez des rats soumis à une irradiation totale et SZWARC, 1961 (514), signale également une variation des activités phosphatasiques au niveau de greffons cornéens lyophilisés. En 1963, BAUER (52) constate que le parenchyme d'une cornée normale ne révèle aucune activité phosphatasique alcaline, activité qui cependant joue un rôle significatif dans la régénération du parenchyme cornéen vascularisé et opaque; MIMURA et coll. (365) relèvent la présence de cette activité au niveau de l'épithélium de la cornée chez le Bœuf; SOLLNER (500), étudiant chez les bovidés les variations métaboliques dues à l'âge, signale une baisse des activités phosphatasiques chez les animaux très âgés; GARICALI et MARINO (188) mettent en évidence une réaction positive au niveau des couches superficielle et médiane de l'épithélium cornéen chez le Cheval, le Bœuf et le Lapin; chez le Cobaye, ces auteurs la retrouvent, après de longs temps d'incubation, localisée uniquement dans le tiers antérieur du parenchyme. Citons encore les recherches de LESSEL et KUWABARA, 1964 (328), qui décèlent chez différentes espèces de vertébrés la présence de phosphatase alcaline au niveau des tissus suivants : cornée, conjonctive, iris, cristallin, choroïde, rétine; de LAMBERT et DONN, 1964 (308), qui rappellent que l'épithélium cornéen renferme une quantité notable de phosphatases. Notons enfin les travaux récents de BASTIDE, TRONCHE, SOULA et DASTUGUE, 1967 (50), qui signalent la présence de phosphatases alcaline et acide au niveau de la rétine chez les bovidés; ces deux activités sont sensiblement du même ordre de grandeur.

De plus, nous pouvons également noter ici les recherches effectuées sur différents tissus oculaires par de VINCENTIIS, 1951 (547), GRETHE et coll., 1952 (199), NODA, 1954 (391), de ROSA, 1957 (457), MELIK et coll., 1960 (352), GAIPA, 1962 (187).

2° *Phosphatases acides.*

Les recherches entreprises par les différents auteurs précités ne permettent pas généralement de noter dans les tissus oculaires une activité phosphatasique acide aussi importante que celle constatée dans le cas de la phosphatase alcaline. En effet, de VINCENTIIS, 1951 (547), et REIS, 1951 (437), ne peuvent mettre en évidence une phosphatase acide dans les tissus oculaires chez l'Homme. Cependant, quelques années plus tard, BERGGREN, 1957 (69), décelé quelques traces de phosphatase acide au niveau de l'épithélium ciliaire et de la cornée chez l'Homme; de plus, cet auteur obtient une réaction très positive dans les cellules épithéliales de la cornée de Lapin, Poulet et Cyprin et constate également de légères traces d'enzyme dans l'endothélium de la cornée chez le Lapin et le Poulet. De même, de VINCENTIIS et TESTA, 1959 (551), arrivent à mettre en évidence une activité phosphatasique acide dans l'épithélium de la cornée; cette activité plus importante que celle constatée dans la choroïde se révèle toutefois inférieure à celle qui est décelée dans la rétine. SCHIMKE, 1959 (471), constate une légère diminution de cette activité enzymatique dans les rétines de lapins élevés depuis la naissance dans une obscurité totale.

En 1961, STEFANELLI et coll. (501) décèlent la présence de l'enzyme dans la rétine d'embryon de Poulet et SHIBKOVA, 1964 (492), la trouve également dans les éléments nerveux de la rétine chez le Chien et le Chat. La même année, SHANTHAVEERAPPA et coll. (488), par méthode histochimique, localisent chez le Lapin une réaction fortement positive au niveau des tissus suivants : épithélium cornéen, choroïde, rétine, iris, procès ciliaires; LESSEL et coll. (328) relèvent la présence de l'enzyme, entre autres, dans la cornée chez le Chien et le Chat et dans la conjonctive chez le Cobaye. Enfin, SHANTHAVEERAPPA, 1965 (484), retrouve cette activité enzymatique dans les cellules de l'œil, au niveau de l'appareil de Golgi.

— PHOSPHOMONOESTÉRASES SPÉCIFIQUES.

1° *Nucléotidases.*

En 1947, SULLMANN (509) note l'hydrolyse de l'adénosine-5-monophosphate en présence de préparations de cornées de Veau, Porc et Lapin. REIS, 1951 (437) constate chez l'Homme une activité de la 5-nucléotidase plus intense dans la rétine et la choroïde que dans l'iris; de plus, cet auteur signale au niveau de la choroïde une activité 6 fois plus élevée que dans les autres tissus oculaires. La même année, ZELLER et coll. (582) mentionnent également la présence de cette enzyme dans le cristallin de Lapin. Par méthode

histochimique, AKIYA et coll., 1958 (2), décèlent une activité 5-nucléotidasique au niveau de la rétine chez le Bœuf, beaucoup plus intense dans les microsomes que dans les mitochondries et les noyaux. WAKAE, 1963 (558), relève également la présence de l'enzyme dans l'épithélium et le parenchyme de la cornée conservée chez le Lapin; l'intensité de la réaction varie avec la température et le milieu de conservation. LESSEL et KUWABARA, 1964 (328), expérimentant chez diverses espèces de vertébrés, relèvent une réaction plus intense dans la choroïde, la rétine et la sclérotique que dans le corps ciliaire, l'iris, la cornée et la conjonctive. Par voie biochimique, BASTIDE, TRONCHE, SOULA et DASTUGUE, 1967 (50), signalent également la présence de l'enzyme dans la rétine et le corps vitré chez les bovidés.

2° *Glucose-6-phosphatase.*

Une étude histochimique permettant la localisation de cette enzyme au niveau des tissus oculaires a été poursuivie par différents auteurs. Ainsi, PENA-CARRILLO, 1963 (412), décèle la présence de glucose-6-phosphatase dans le stroma ainsi que dans l'épithélium de la cornée chez le Lapin. En 1964, SHANTHAVEERAPPA et BOURNE (487) notent également chez le Lapin une activité glucose-6-phosphatasique au niveau des tissus suivants : conjonctive, cornée, sclérotique, choroïde, rétine, ainsi que dans les muscles oculaires. De plus, LESSEL et KUWABARA (328) signalent une réaction positive au niveau de l'épithélium cornéen, ainsi que dans l'épithélium pigmentaire et la couche plexiforme de la rétine, et cela chez différentes espèces : Homme, Veau, Porc, Chien, Chat, Lapin, Cobaye.

En 1966, par voie biochimique, BASTIDE, TRONCHE et DASTUGUE (46) constatent au niveau de la rétine de bovidés une activité glucose-6-phosphatasique appréciable et supérieure à celle des humeurs aqueuse et vitrée.

IV. — *HYDROLASES DE DIESTERS PHOSPHORIQUES*

— *Nucléase.*

Parmi les *phosphodiéstérases*, nous pouvons relever la présence de nucléase; ainsi les travaux de SULLMANN, 1947 (509), mettent en évidence l'hydrolyse des acides nucléiques en présence de préparations de cornées de Veau, Porc et Lapin. Plus récemment, KANEKO, 1960 (252), met en évidence une activité phosphodiéstérasique dans les rétines de bétail. Cette activité se révèle optima pour une valeur de pH égale à 7,5 et prédomine dans les microsomes et les mitochondries.

V. — *HYDROLASES D'ESTERS SULFURIQUES*

— *Sulfatases.*

MEYER, 1948 (355), décèle dans la cornée la présence d'une sulfatase qui hydrolyse le groupement sulfate de l'acide hyaluronique

et WORTMAN, 1962 (573), relève quatre formes d'aryl sulfatases hydrolysant le nitrocatéchol sulfate et le para-nitrophényl sulfate. Les ions SO_4 sont inhibiteurs pour les formes a et b et stimulants pour la forme d dans la cornée de Bœuf et sans effet dans la cornée de Lapin.

VI. — HYDROLASES DE GLYCOSIDES

Ce sont des enzymes qui hydrolysent les osides; on distingue les oligosaccharidases et les polysaccharidases.

— OLIGOSACCHARIDASES.

1° *Maltase, Invertase.*

En 1920, HAYANO (211) constate la présence de maltase dans l'humeur aqueuse de Lapin mais ne trouve pas d'invertase dans l'humeur aqueuse de Bœuf et de Lapin. Par la suite, MARQUARDT, 1951 (341), confirme l'absence d'invertase dans l'humeur aqueuse mais, par contre, décèle l'enzyme dans le cristallin; sa présence dans la cornée est douteuse.

2° β -glucuronidase, β -galactosidase, β -glucosidase.

Etudiant la localisation histochimique de la β -glucuronidase dans les tissus oculaires, FRIEDENWALD et coll., 1948 (182), BECKER et coll., 1950 (56), la décèlent dans les cellules épithéliales et endothéliales de la cornée chez le Rat, ainsi que dans la membrane conjonctive; ces mêmes auteurs notent une intense activité enzymatique au niveau de l'épithélium ciliaire chez le Lapin. Quelques années plus tard, TAKAGI et TAKEMURA, 1954 (515), constatent également la présence de l'enzyme dans les tissus suivants : épithéliums cornéen et conjonctival et fibres musculaires de l'orbite chez le Rat; épithélium cornéen, iris et corps ciliaire chez le Lapin; glandes lacrymales chez l'Homme; par contre, ces auteurs ne trouvent aucune trace de l'enzyme au niveau du cristallin chez le Rat et des glandes lacrymales chez le Lapin. CENTANNI, 1956 (95), détermine à l'aide de la méthode de Talalay, l'activité mono- β -glucuronidasique chez le Lapin; après une heure d'incubation, pour 1 g de tissu ou 1 ml d'humeur, les quantités de phénolphtaléine libérées, exprimées en μg , sont respectivement : humeur aqueuse : 231; humeur vitrée : 251; cristallin : 5.420; rétine : 4.423; corps ciliaire : 1.233; foie : 19.807 et cerveau : 5.947. Citons également les travaux de PIRIE, 1957 (420), qui rappelle l'activité de la β -glucuronidase au niveau du corps ciliaire chez le Lapin.

HAMA, 1957 (203), étudiant la distribution de cette enzyme dans les différents milieux oculaires, constate chez le Chien et le Chat une activité relativement intense dans le cristallin et les humeurs aqueuse et vitrée; chez le Lapin, l'humeur aqueuse seconde possède une activité plus importante que celle de première ponction

et chez le Porc, seule une légère activité est décelée dans l'uvée. En 1963, MIMURA et coll. (365) signalent dans l'épithélium cornéen de Bœuf la présence de β -glucuronidase, β -galactosidase, β -glucosidase et SHANTHAVEERAPPA et coll., 1963, 1964 (486, 490), mettent en évidence une activité β -glucuronidasique très intense dans la gaine myélinique du nerf optique, la partie profonde des cônes et bâtonnets, les muscles oculaires et moins importante dans l'épithélium et l'endothélium de la cornée. HAYASHI et coll., 1964 (213), après technique cytochimique, signalent d'une façon générale une faible activité β -glucuronidasique dans les tissus oculaires. Récemment, BASTIDE, TRONCHE, SOULA et DASTUGUE, 1967 (50), étudient cette même activité enzymatique au niveau de la rétine et des humeurs de l'œil chez les bovidés.

— POLYSACCHARIDASES.

1° *Amylases.*

Les amylases scindent l'amidon et le glycogène. Comme le rapporte BASTIDE, 1961 (34), de nombreux auteurs ont signalé une activité amylasique dans les humeurs de l'œil. Nous pouvons citer les travaux très anciens de LEBER, 1903 (319), Lo CASCIO, 1922 (331), IKEBATA, 1927 (238). Plus récemment, SEKOGUCHI, 1949 (479), étudie la dégradation du glycogène dans la rétine de Grenouille et PAU, 1958 (407), rappelle la présence de cette enzyme dans l'humeur aqueuse et le corps vitré. MYLINS, 1961 (381), décèle dans les larmes la présence d'une enzyme qui scinde le glycogène; d'après cet auteur, il s'agit d'une amylase. ANTELAVA et coll., 1963 (17), indiquent par voie histochimique une activité amylasique chez l'Homme et le Rat au niveau de la rétine qui contient très probablement un polysaccharide de type glycogène.

2° *Hyaluronidase.*

L'hyaluronidase est une enzyme qui dépolymérise l'acide hyaluronique. Différents travaux ont permis de noter sa présence dans les tissus oculaires. Ainsi, MEYER et CHAFFEE, 1940 (356), constatent l'hydrolyse d'un mucopolysaccharide acide contenu dans la cornée de Chat. Quelques années plus tard, MEYER, 1948 (355), signale l'existence d'hyaluronidase dans la cornée et l'humeur aqueuse de Lapin et SÜLLMANN, 1951 (510), rapporte la présence de l'enzyme dans le corps ciliaire et l'iris. SILIATO, 1952 (494), à l'aide du test d'Elson et Morgan, établit l'existence, dans la cornée de Lapin, d'un système enzymatique hyaluronidase-acide hyaluronique; d'après ce système enzymatique, l'auteur « essaye d'interpréter la pathogénie de certaines kératopathies ».

Plus récemment, MAYER, 1955 (349), présente une méthode sensible pour déceler l'hyaluronidase dans les tissus oculaires. Cette méthode est basée sur le fait que des fractions mucoïdes de streptocoque, dans certaines conditions, produisent une capsule d'acide

hyaluronique qui est dissoute en présence d'hyaluronidase. Par la suite, MAYER et coll., 1956 (350), signalent cependant que la présence de l'enzyme ne peut être mise en évidence par cette méthode dans la cornée normale, l'iris et le corps ciliaire chez le Lapin, si les concentrations sont très basses; cette méthode ne donne aucun résultat sur des cornées traumatisées à la suite d'électrochocs. KHVATOVA, 1959 (261), constate qu'une solution nutritive contenant des rétines de Grenouille ou de Lapin, soumises à une excitation lumineuse durant 5 minutes, a son activité hyaluronidasique augmentée, alors qu'elle décroît à l'obscurité; après 10 minutes d'éclairement, il y a baisse à la fois des activités hyaluronidasique et anti-hyaluronidasique de la solution.

En 1963, KOVALEV (291) relève dans l'iris et le corps ciliaire un taux d'hyaluronidase très élevé dans les cas de cataracte et beaucoup moins intense dans l'atrophie oculaire ou les cas de glaucome et ANTELAVA et coll. (17) retrouvent cette même activité enzymatique au niveau de la rétine chez l'Homme et le Rat.

3° Lysozyme.

Le lysozyme « liquéfie les corps bactériens, probablement par hydrolyse de leurs mucoprotéines ». Découvert en 1922, dans les larmes, par FLEMING (163), il est produit par la glande lacrymale comme le rappelle TRONCHE en 1953 (531) et son absence provoque des kératoconjunctivites.

En 1953, MIGLIOR et PIRODDA (363) recherchent l'activité lysozymique de la cornée chez l'Homme, le Cheval, l'Ane, le Chien et le Lapin, dans le but de prouver éventuellement l'importance du lysozyme dans l'immunité naturelle vis-à-vis de l'infection herpétique. D'après les résultats obtenus, ces auteurs constatent, d'une part, que la cornée possède une activité lysozymique qui rejoint celle des larmes et, d'autre part, qu'il existe un rapport évident entre l'activité lysozymique et l'immunité naturelle envers l'infection herpétique. En 1961, MIGLIOR et ORZALESI (361), étudiant *in vitro* le pouvoir de fixation du lysozyme par des homogénats de différents tissus oculaires, constatent un pouvoir de fixation maximum pour le nerf optique et la rétine et minimum pour la cornée, l'iris et le cristallin.

VII. — HYDROLASES DE PEPTIDES

Les peptidases ou enzymes protéolytiques scindent la liaison peptidique unissant entre eux les acides aminés ou les peptides.

La plupart des expérimentateurs s'accordent à trouver dans les liquides oculaires une activité protéolytique; rappelons, entre autres, les travaux de ROBERT, 1918 (446); JASINSKY, 1925 (248); RODIGINA, 1932 (450); KRAUSE, 1933 (294); ZELLER et DEVI, 1957 (583); PAU, 1958 (407); OTTO et HAHNEL, 1960 (404).

En ce qui concerne les tissus oculaires, cette activité a été également étudiée par différents auteurs :

1° *Peptidases, leucine-aminopeptidase.*

En 1938, ABDERHALDEN et HANSEN (1) signalent la présence de polypeptidases dans la cornée et le cristallin. ZELLER et DEVI, 1957 (583), notent dans le cristallin chez l'Homme, le Bœuf et le Lapin, la présence de nombreuses exopeptidases attaquant la glycyl-L-leucine, la L-leucylglycine et la L-leucylglycylglycine. ZELLER et SCHOCK, 1958 (584), remarquent une nette diminution de l'activité peptidasique dans les cas de cataracte expérimentale après irradiation à 2.000 R. et DEVI, 1963 (141), constate la disparition de cette activité enzymatique au niveau du cristallin dans les cas de cataracte sénile chez l'Homme.

En 1957, METHFESSEL (354) décèle dans le cristallin de Bœuf une leucine aminopeptidase, étudiée vis-à-vis de la leucylglycylglycine. L'activité de l'enzyme est optima pour une valeur de pH comprise entre 8,3 et 10,0 et une température de 56° C; elle est activée par les ions Mn^{++} et Mg^{++} et inhibée par les ions Ag^+ , Pb^{++} , Hg^{++} et la 8-oxyquinoléine. En outre, BASTIDE, DASTUGUE et coll., 1961, 1963 (34, 48), étudiant l'activité leucine aminopeptidasique des yeux de bovidés, signalent une faible activité au niveau des humeurs aqueuse et vitrée alors qu'ils relèvent un pourcentage élevé dans la rétine.

2° *Insulinase.*

Recherchant l'insulinase dans les milieux oculaires, de CONCLIS, 1956 (108), constate une faible activité enzymatique dans les humeurs de l'œil, lors d'hémorragies; dans les cas de cataracte, une activité importante est décelée, en relation avec la protéolyse lenticulaire.

3° *Protéases, Protéinases.*

En 1933, KRAUSE (294) met en évidence, dans le cristallin de Bœuf, une α -protéase efficace pour une valeur de pH comprise entre 3,0 et 8,0 et une β -protéase dont l'activité est optima pour une valeur de pH égale à 5,0. WEVE et FISCHER, 1936 (562), signalent la présence de protéinases dans la rétine et la choroïde.

4° *Trypsine, Chymotrypsine, Cathepsines, Pepsine.*

ZELLER et DEVI, 1957 (583), étudient par méthode manométrique certaines endopeptidases de l'œil : trypsine, chymotrypsine et cathepsine et DEVI, 1960, 1961 (139, 140), signale dans le cristallin de Bœuf la présence de pepsine, de chymotrypsine et d'enzymes semblables aux cathepsines A et C.

5° *Activité fibrinolytique.*

Récemment, MICHIO KOMOTO, 1963 (360), expérimentant sur l'activité fibrinolytique de la cornée, montre que des extraits de

cornées normales de Poulet et de Porc, en solutions salines, possèdent une très intense activité antiplasmique alors que chez le Lapin il existe une importante activité plasmique.

VIII. — ENZYMES AGISSANT SUR LES LIAISONS C—N AUTRES QUE LES LIAISONS PEPTIDIQUES

Aminase, Désaminase, Amidase.

En 1951, MARQUARDT (341) rapporte la présence d'une aminase dans la rétine de Grenouille. AURICCHIO et de VINCENTIIS, 1949 (23), font état des réactions de désamination qui se produiraient à la fois dans la cornée et la choroïde. Plus récemment, WAITZMAN et coll., 1958, 1960 (556, 557), signalent une désaminase de l'acide adénylique dans les procès ciliaires de Porc et de Lapin; l'enzyme est active sur l'A.T.P. et l'A.M.P. et, d'après ces auteurs, elle jouerait un rôle dans la sécrétion de l'humeur aqueuse. De plus, il est signalé par SULLMANN, 1951 (510), dans la rétine de Porc et par BASTIDE, SOULA, TRONCHE et DASTUGUE, 1966 (45), dans la rétine de bovidés, une amidase spécifique qui désamine l'acide glutamique, la glutaminase; l'enzyme diffère de celle du foie.

IX. — ENZYMES AGISSANT SUR LES LIAISONS ANHYDRIDES D'ACIDE

1° Adénosine triphosphatase, Pyrophosphatase.

Par méthode histochimique, ALLEN et FRIEDENWALD, 1953 (10), mettent en évidence chez le Lapin albinos, à pH 8,25 et après incubation de 23 heures, une réaction fortement positive avec l'A.T.P., au niveau de l'épithélium, de l'endothélium et du stroma cornéens; des résultats positifs sont, en outre, obtenus au niveau des tissus suivants: épithélium conjonctival, sclérotique, corps ciliaire, iris, cristallin, choroïde et rétine. Des réactions positives sont également décelées au niveau de ces mêmes tissus par BELLONE et FARALDI, 1964 (57); SHANTHAVEERAPPA et BOURNE, 1964 (487); LESSEL et KUWABARA, 1964 (328), respectivement chez l'Homme, le Veau, le Porc, le Chien, le Lapin, le Cobaye.

En 1961, SZWARC (514) montre que l'activité adénosine triphosphatasique est diminuée au niveau de greffons cornéens lyophilisés, utilisés en kératoplastie. KAYE et PAPPAS, 1964 (260), signalent cette activité dans l'endothélium cornéen chez le Lapin.

En 1951, ZELLER et coll. (582) décèlent au niveau du cristallin de Cheval, Chien, Lapin et Rat, la présence des activités adénosine triphosphatasique et pyrophosphatasique; ces auteurs signalent que ces deux activités sont très thermolabiles. Ils en obtiennent la perte presque totale dans les cas de cataracte expérimentale complète. BONTING et coll., 1963 (80), notent également la présence d'adénosine triphosphatase au niveau de l'épithélium du cristallin chez le Veau, le Chat et le Lapin.

De même, différents auteurs étudient cette activité enzymatique au niveau de la rétine. Ainsi, VENKSTERN, 1949 (539), constate qu'elle est « identique à celle des nerfs et du cerveau mais n'atteint que le tiers de celle du muscle ». EZUKA, 1956 (160), MAJIMA, 1958 (337), SEKOCUTI, 1960 (480), signalent une augmentation de l'activité après adaptation à la lumière alors que pour ROBERT et coll., 1965 (447), la vitesse d'hydrolyse de l'A.T.P. dans les bâtonnets de rétines de Porc est la même après adaptation à la lumière ou à l'obscurité.

En 1964, par méthode histochimique, la présence de l'enzyme est mise en évidence par COLE (106), RILEY (443), KAYE et PAPPAS (260) au niveau de l'épithélium ciliaire chez le Lapin. La même année, BELLONE et coll. (57) font ressortir que cette enzyme participe au mécanisme de la production de l'humeur aqueuse dans le corps ciliaire et notent l'inhibition remarquable provoquée par la digitaline *in vivo*.

De plus, il est à signaler que la plupart de ces auteurs notent une activation de l'enzyme par les ions Na^+ , K^+ ou Mg^{++} et une inhibition causée par la présence des ions Cu^+ ou Zn^+ , ou la présence d'ouabaine dans le milieu réactionnel.

2° Nucléoside phosphatase.

SMELSER et OZANICS, 1965 (497) relèvent au niveau de la cornée, la présence de nucléoside phosphatase et suggèrent que l'enzyme joue un rôle important dans la transparence cornéenne. SCARPELLI et coll., 1963 (465) constatent une activité nucléoside triphosphatique au niveau des cônes et bâtonnets et dans la couche plexiforme de la rétine de Grenouille.

LYASES

L'étude de ces enzymes nous permet d'envisager successivement : les carboxy-lyases, les aldéhydes-lyases, les hydro-lyases et les amidine-lyases.

I. — CARBOXY - LYASES

Carboxylase.

D'après MARQUARDT, 1951 (341) la carboxylase, enzyme décomposant les acides carboxyliques, n'a pu être décelée au niveau de la rétine.

II. — ALDEHYDES - LYASES

Fructose diphosphate aldolase.

La fructose diphosphate aldolase catalysant la transformation du fructose 1-6-diphosphate en phospho-3-glycéraldéhyde et phospho-3-dihydroxyacétone a fait l'objet de différents travaux. Ainsi, MULLER, 1937 (377) l'a étudiée au niveau du cristallin de bovidés et SULLMANN, 1947 (509) constate une scission du fructose-1-6-diphosphate en présence de préparations de cornées de Veau, Porc, Lapin, Rat et Vache.

Par la suite, WORTMAN et BECKER, 1956 (575) signalent au niveau de la capsule antérieure du cristallin de Lapin, une activité aldolasique 2 fois plus élevée que dans la capsule postérieure et KUHLMAN et RESNIK, 1958 (301) étudiant quelques activités enzymatiques au niveau de la cornée et du cristallin chez le Rat, décèlent, entre autres, la présence de l'aldolase, et signalent que la cornée est « enzymatiquement » plus active que le cristallin. KUHLMAN, 1959 (299) expérimentant sur des cornées lyophilisées de Chat, Rat et Lapin, note la présence de l'enzyme au niveau des cellules épithéliales. De plus, BASTIDE, 1961 (34), BASTIDE, TRONCHE, MEUNIER, BALLADE et DASTUGUE, 1961 (48) constatent chez les bovidés, une activité aldolasique 5 fois plus intense dans le corps vitré que dans l'humeur aqueuse. KMONICEK, 1961 (275) décele cette même activité à un taux relativement élevé au niveau de cristallins de cadavres humains et PAULUS et HOCKWIN, 1961 (408) déterminent au niveau du cristallin chez le Cobaye, une activité aldolasique intense chez les animaux jeunes, activité réduite de 30 p. cent après irradiation aux Rayons X.

D'après KORC et CALCAGNO, 1963 (288) cette activité enzymatique diminue très rapidement au niveau du cristallin chez le Rat, après 20 jours de régime lactosé et SOLLNER, 1963 (500) étudiant chez les bovidés, les variations métaboliques dues à l'âge, constate une légère baisse de l'activité aldolasique chez les animaux très âgés. Enfin, en 1964, BASTIDE, TRONCHE, MEUNIER et DASTUGUE (49) font ressortir l'importance notable de cette activité au niveau de la rétine chez les bovidés.

III. — *HYDRO - LYASES*

1° *Anhydrase carbonique.*

Parmi les hydro-lyases, l'anhydrase carbonique occupe une place importante; en effet, cette enzyme règle au niveau des humeurs et tissus, la conversion du gaz carbonique et de l'eau en acide carbonique.

En 1941, BAKKER (27) décèle chez les Mammifères, la présence de cette enzyme au niveau des tissus oculaires suivants : rétine, cristallin, choroïde, sclérotique et cornée. Cet auteur obtient des résultats variables selon l'espèce; de plus, il suppose que les tissus qui ont une forte activité glycolytique aérobie et une faible vascularisation, possèdent une haute concentration en anhydrase carbonique. Ce même auteur, 1948 (29) signale chez les bovidés, une baisse de la concentration de l'enzyme au niveau de cristallins cataractés, cette baisse serait en relation avec le degré d'opacité.

DUANE, 1949 (150) étudiant certains aspects de la respiration cornéenne, suppose que la présence de cette enzyme dans la cornée est en relation possible avec la disparition de CO_2 dans ce même tissu. WISTRAND, 1951 (568) signale l'anhydrase carbonique dans le corps ciliaire et l'iris chez le Lapin. KAUTH et SOMMER, 1953 (256) la décèle chez les Oiseaux, au niveau des tissus suivants : corps ciliaire, iris, rétine, cristallin. La même année, REICH et coll., (436) ne constatent pas chez les bovidés, de variations très significatives du taux de l'enzyme, avec l'âge; d'après ces auteurs, il est peu probable, contrairement au phénomène constaté par BAKKER (26, 29) qu'une relation existe entre la diminution de l'activité enzymatique et l'opacité de cristallins cataractés séniles.

Etudiant la répartition de l'anhydrase carbonique au niveau de l'uvée antérieure chez le Lapin, GREEN et coll., 1955 (198) attribuent en majeure partie, cette activité au corps ciliaire et à l'iris. Après administration intraveineuse et sous-conjonctivale d'acétazolamide, ces auteurs constatent au niveau de ces tissus, l'inhibition complète de l'activité enzymatique, mais ne relèvent aucune baisse de la tension intra-oculaire chez l'animal. La même année, BALLINTINE et MAREN (31) n'obtiennent pas de variation du taux de l'anhydrase carbonique dans les tissus oculaires de Lapin, dont la pression intra-oculaire est restée inchangée. GLOSTER (189) par méthode manométrique, ne peut démontrer la présence de cette enzyme

dans des extraits aqueux de cornées chez le Lapin. Mais GLOSTER et coll., 1955 (189, 191) notant l'activité de l'anhydrase carbonique dans les yeux de Lapin albinos, par rapport à celle du sang total, obtiennent : iris : 1/65, corps ciliaire : 1/30, cristallin : 1/4; les humeurs de l'œil ont une activité inférieure à celle constatée dans ces tissus.

AMBROSIO, 1956 (11) étudiant les variations de l'anhydrase carbonique dans la cornée et la rétine au cours d'un processus inflammatoire provoqué de l'uvéa, ne note pas dans la rétine, de changement notable du taux de cette enzyme par rapport à un œil normal; en ce qui concerne la cornée, la très faible quantité d'enzyme contenue dans ce tissu n'a pas permis à l'auteur de donner un résultat valable. La même année, CHIKALO (98) observe chez le Lapin albinos, après transplantation de tissus, un changement dans l'activité anhydrique « en faveur de la déshydratation de CO_3H_2 dans la rétine et en faveur de l'hydratation de CO_2 dans la cornée ». En 1957, CARMICHAEL et coll. (93) à l'aide de méthodes histochimiques, ont pu démontrer la présence de l'enzyme au niveau du corps ciliaire et de l'iris chez le Lapin et ARVY (19) constate une élévation du taux de l'enzyme avec la croissance, dans l'œil, chez l'embryon de Poulet.

Plus récemment, MAMO, NOWAROWSKI et LÉOPOLD, 1960 (338) signalent l'activité anhydrique à un taux relativement élevé dans les yeux de Mammifères et d'Oiseaux, par rapport à d'autres tissus de l'organisme; l'enzyme est localisée principalement dans le cristallin et le corps ciliaire. De plus, ces auteurs constatent qu'elle joue un rôle dans le développement du cristallin chez l'embryon de Lapin. Enfin, ERICKSON et coll., 1961 (157) signalent l'activité de l'anhydrase carbonique dans les sécrétions lacrymales et FUJITA, 1961 (185) étudiant les effets des inhibiteurs de l'enzyme au niveau des différents tissus chez le Lapin, constate une inhibition beaucoup plus importante dans l'uvéa que dans le rein. Pour SEN et coll., 1963 (483), l'anhydrase carbonique du cristallin de bovidés doit exister sous la forme de deux isoenzymes régularisant l'activité *in situ*.

2° Fumarase, Aconitase.

En 1956, WORTMAN et BECKER (575) mettent en évidence une activité fumarasique dans le cristallin et pour BASTIDE, TRONCHE, MEUNIER et DASTUGUE, 1964 (49) les activités de la fumarase et de l'aconitase au niveau de la rétine de bovidés, se révèlent peu élevées; ces auteurs n'observent pas de variations avec l'âge des animaux.

3° Enolase.

En 1963, RINALDI et TIERI (444) décèlent une activité éno拉斯ique dans la rétine de Lapin, activité qui devient maxima pour une valeur de pH comprise entre 7,3 et 7,5.

IV. — AMIDINE - LYASES

Argino-succinase.

En 1960, TOMLINSON et WESTALL (529) observent la présence d'argino-succinase dans les homogénats de rétines chez le Bœuf.

ISOMÉRASES

— *Glucosephosphate isomérase.*

Cette enzyme catalyse la conversion du glucose-6-phosphate en fructose-6-phosphate.

En 1956, WORTMAN et BECKER (575) décèlent chez le Lapin, au niveau de la capsule antérieure du cristallin, une activité glucose-6-phosphate isomérasique environ 2 fois supérieure à celle de la capsule postérieure et KMONICEK, 1961 (275) signale cette même activité, relativement importante, au niveau de cristallins de cadavres humains.

Une intense concentration de phospho-gluco-isomérase a été relevée dans les rétines de Lapin et de Singe par LOWRY et coll., 1956, 1961 (333, 334) dans la couche réticulaire; au niveau de la couche profonde, cette activité enzymatique se révèle plus importante chez le Lapin que chez le Singe.

Enfin, par voie biochimique, BASTIDE et coll., 1961 (48), DASTUGUE et coll., 1963 (115) notent chez les bovidés, une activité phosphohexose-isomérasique au niveau du corps vitré, de l'humeur aqueuse et de la rétine.

ACTIVITÉS ENZYMATIQUES DE LA CORNÉE ET ROLES BIOLOGIQUES

L'étude analytique précédente nous a montré la richesse de la cornée en activités enzymatiques. Nous résumerons maintenant l'aspect de ces activités dans les différents métabolismes en examinant successivement l'activité respiratoire, le métabolisme glucidique, le métabolisme lipidique et le métabolisme protidique. Ensuite, nous envisagerons l'étude de la transparence, des échanges hydriques et de la nutrition de la cornée.

I. — ACTIVITE RESPIRATOIRE

Si l'on conserve une cornée excisée et intacte dans une chambre humide en présence d'oxygène, elle demeure transparente plus de 24 heures, alors que si l'on remplace l'oxygène par l'hydrogène, la membrane s'opacifie rapidement. Le même fait se produit parfois si l'on fait passer du gaz carbonique à travers la cornée, mais alors, outre l'opacification, il y a nécrose de l'épithélium. Selon les travaux de FISCHER, 1930 (161), l'oxygène de l'air pénètre à travers l'épithélium et le stroma et est utilisé par l'endothélium; au contraire, le gaz carbonique traverse la cornée en sens inverse, vraisemblablement de la chambre antérieure vers l'extérieur et son accumulation détermine la turgescence de la couche endothéliale ainsi que l'opacification consécutive du stroma. Cet auteur constate également que l'épithélium n'absorbe pas l'oxygène de l'air et ne lui cède pas de gaz carbonique.

Cependant la perméabilité sélective et unidirectionnelle de la cornée pour l'oxygène et le gaz carbonique, théorie soutenue par FISCHER, paraît peu probable; elle a été vivement critiquée par BAKKER, 1947 (28). Cet auteur, étudiant *in vivo* la respiration cornéenne chez le Rat, constate que dans une atmosphère azotée, la cornée demeure transparente pendant 12 heures et que dans une atmosphère contenant environ 92 p. cent d'azote et 8 p. cent de gaz carbonique, la membrane demeure transparente, sans altération notable des différentes couches. Ces résultats démontrent que l'oxygène de l'air n'est pas indispensable à la cornée; son absence, en effet, n'empêche pas la vie normale du tissu, pas plus que l'élimination du gaz carbonique n'est essentielle pour le métabolisme de la membrane.

Il est bien certain que dans une cornée vivante l'oxygène diffuse dans toutes les directions. Les travaux de LANGHAM, 1951, 1952 (309, 310), HEALD et LANGHAM, 1956 (214), montrent que la mem-

brane utilise aussi bien l'oxygène de l'air que celui qui diffuse à partir des vaisseaux sanguins du limbe et à partir de l'humeur aqueuse; cette dernière source semble pourtant insuffisante pour assurer les nécessités respiratoires de la couche épithéliale.

La consommation d'oxygène par heure et par mg de tissu sec, exprimée en μl (QO_2), a été étudiée par de nombreux auteurs, parmi lesquels nous pouvons citer : ORZALES, 1939 (402); LEE et HART, 1944 (320); ROBBIE et coll., 1947 (447); DUANE, 1948, 1949 (148, 150); EPSHTEYN, 1950 (155); de ROETH, 1950 (455); DESVIGNES et coll., 1953 (138); THOMAS, 1955 (525); LANGHAM, 1960 (312); MATSUMOTO et coll., 1960 (342); OCHI et coll., 1960 (395); KURACHI et coll., 1964 (304).

L'expérimentation a été faite soit sur la cornée entière, soit sur l'épithélium, le stroma ou l'endothélium, à l'aide de la méthode manométrique de Warburg. Cette méthode consiste à faire respirer le tissu, en absorbant le gaz carbonique dégagé et en mesurant la quantité d'oxygène consommé. Pour certains auteurs, c'est la couche épithéliale qui présente le QO_2 le plus élevé, pour certains autres, au contraire, c'est l'endothélium, ce qui semblerait lui donner un rôle prépondérant dans la respiration de la cornée. D'une façon générale, il est possible de constater que les valeurs de QO_2 trouvées pour la cornée entière, fraîchement excisée, peuvent varier selon les espèces de 0,5 à 1,9. Pour certains auteurs, elles sont plus élevées, par exemple, chez le Bœuf et le Lapin que chez le Chat [de ROETH, 1950 (455)]; pour d'autres, au contraire, la cornée de Chat présente une valeur de QO_2 bien supérieure [EPSHTEYN, 1950 (155)]. Ces valeurs peuvent du reste diminuer de 30 à 50 p. cent, si l'on opère sur des cornées conservées, et cela après 10 à 12 jours de conservation [SHESTERICOVA et ROSENFELD, 1946 (491); DUANE, 1948 (148); EPSHTEYN, 1950 (155); OCHI et coll., 1960 (395)]; une semblable diminution est observée dans les cas de brûlures cornéennes [CHERNOVA, 1964 (97)]. Par contre, une augmentation des valeurs de QO_2 est relevée après instillations de L-aspartate ou de vitamine B_2 dans le sac conjonctival [FUNATSU et coll., 1961 (186); KURACHI et coll., 1964 (304)].

Les différentes valeurs trouvées dans la littérature ne semblent pas toujours concorder, cela prouve combien est sujet à discussions, même à l'heure actuelle, le problème de la respiration cornéenne.

De plus, il est essentiel de noter ici que l'utilisation de l'oxygène dépend avant tout de la présence du système cytochrome-cytochrome oxydase [ROBBIE et coll., 1947 (445); DUANE, 1949 (150); LANGHAM, 1951 (309); THOMAS, 1955 (525); PIRIE, 1960 (421); MAURICE, 1962 (346)]. La présence de ce système enzymatique a été signalée le plus souvent au niveau des cellules épithéliales de la cornée, comme du reste les activités oxydasiques en général, peroxydasique ou catalasique [MARQUARDT, 1951 (341); SULLMANN, 1951 (510); FRANÇOIS et RABAEY, 1954 (172); de CONCILHIS, 1957 (109)].

II. — METABOLISME GLUCIDIQUE

La cornée présente un métabolisme glucidique actif, variable cependant avec les espèces. Parmi les nombreux rapports consacrés à cette étude, il nous faut citer, entre autres, ceux de LEINFELDER, 1948 (321) ; de ROETHH, 1950, 1951 (454, 456) ; LANGHAM, 1954 (311) ; THOMAS, 1955 (525) ; MAURICE, 1962 (346).

1° ENZYMES DU CATABOLISME GLUCIDIQUE.

Le catabolisme glucidique peut s'effectuer par deux voies essentielles : la « cassure » anaérobie des glucides en acide pyruvique et acide lactique et ensuite oxydation aérobie du pyruvate dans le cycle de Krebs et l'oxydation directe par le shunt des hexoses monophosphates.

a. *Glycolyse et glycogénolyse.*

D'après de ROETHH, 1951 (456), expérimentant chez le Bœuf, lorsque l'épithélium cornéen est intact, l'activité de la glycolyse en anaérobiose est considérable, alors que l'activité aérobie est presque nulle. Le taux d'acide lactique produit en l'absence complète d'oxygène est environ de 6 μ g par heure pour chaque mg de tissu sec [HERRMANN et HICKMAN, 1948 (221, 224) ; de ROETHH, 1951 (456)]. Après lésion de l'épithélium, la glycolyse aérobie s'accroît, ce qui caractérise l'activité métabolique du tissu. Au niveau du stroma, la production d'acide lactique est sensiblement la même en anaérobiose qu'en aérobie, ce qui indique un tissu inactif « métaboliquement ». Pour LANGHAM, 1954 (311), le stroma cornéen de Lapin possède une faible activité, comparativement aux couches épithéliale et endothéliale ; de plus, cet auteur signale que le taux de glycolyse de la cornée totale diminue environ de 74 p. cent en aérobie. Cependant, contrairement à la cornée de Bœuf, la cornée de Lapin présente une forte activité glycolytique aérobie dans les cellules épithéliales.

Pour KINOSHITA et coll., 1955 (267), la dégradation du glucose semble emprunter, pour la plus grande part, une voie anaérobie ; la cornée ne peut oxyder l'acide pyruvique et accumule de l'acide lactique. D'après ces auteurs, dans l'épithélium cornéen de Bœuf, 65 p. cent du glucose sont métabolisés par voie glycolytique.

La glycolyse met en jeu la séquence enzymatique d'Embden-Meyerhof et la plupart des enzymes de la chaîne ont été mises en évidence dans la cornée, soit chez l'Homme, soit chez diverses espèces animales : phosphorylase, hexokinase, glucose phosphate isomérase, fructose diphosphate aldolase, glycérphosphate déhydrogénase, lactate déhydrogénase [SULLMANN, 1947 (508) ; JAEGER, 1953 (242) ; KUHLMAN et coll., 1958, 1959 (299, 301) ; WORTMAN et coll., 1960 (576) ; BAUM, 1963 (54) ; MORONE, 1964 (375)].

De plus, la cornée contient du glycogène (7,5 p. cent du poids sec), on peut donc s'attendre à ce que la glycogénolyse vienne se superposer à la glycolyse. En effet, différents auteurs, parmi lesquels OHASHI, 1960 (401) et TETERWAK-WLODARSKA et coll., 1963 (523), localisent dans la cornée chez l'Homme et différentes espèces animales, une phosphorylase qui permet la formation du glucose-1-phosphate ou ester de Cori aux dépens du glycogène. Elle scinde la liaison osidique 1-4 du glucose située à l'extrémité de la chaîne et transporte le radical glycosyl sur un acide phosphorique inorganique.

Parmi les enzymes d'utilisation du fructose, la cornée possède seulement la fructose diphosphate aldolase mise en évidence chez le Veau, le Porc, le Lapin, le Chat et le Rat [SULLMANN, 1947 (508); KUHLMAN et RESNIK, 1958 (301); KUHLMAN, 1959 (299)].

b. Shunt des hexoses-monophosphates.

Les enzymes du shunt sont représentées dans la cornée en particulier par la glucose-6-phosphate déhydrogénase et les diaphorases.

Pour KINOSHITA et MASURAT, 1954, 1959 (265, 266), le shunt des hexoses-monophosphates joue un rôle important dans le métabolisme glucidique de l'épithélium cornéen de Bœuf. Pour ces auteurs, bien que la voie oxydative directe n'intéresse que 35 p. cent du glucose métabolisé, son importance énergétique dépasse celle produite par la glycolyse.

Des résultats semblables sont obtenus par KUHLMAN et RESNIK, 1959 (303), pour la cornée de Lapin, dans laquelle 70 p. cent du glucose sont métabolisés par le shunt oxydatif direct.

En outre, KINOSHITA, 1962 (264), discute la possibilité de couplage avec la L.D.H. et de la réoxydation du NADPH₂ produit par ce shunt.

c. Cycle de Krebs.

Parmi les enzymes du cycle de Krebs : pyruvate oxydase, enzyme condensant, cis-aconitase, isocitrate déhydrogénase, α -céto-glutarate déhydrogénase, succinate thiokinase, succinate déhydrogénase, fumarase, malate déhydrogénase, seules l'isocitrate déhydrogénase, la succinate déhydrogénase et la malate déhydrogénase ont pu être déterminées dans la cornée soit chez l'Homme, soit chez diverses espèces animales [JAEGER, 1953 (242); BERGGREN, 1957 (69); MORONE, 1957, 1964 (374, 375); KUHLMAN, 1959 (299); FORCACS, 1962 (164); BAUER, 1963 (53); KAUFMAN et coll., 1964 (255)].

Chez le Lapin et le Rat, BAUM, 1963 (54), décèle au niveau de l'épithélium et de l'endothélium cornéens la présence d'enzymes associées à la glycolyse, le cycle de Krebs et le shunt oxydatif, alors que seules les enzymes associées à la glycolyse et au cycle de Krebs sont représentées dans le stroma cornéen au niveau des kératocytes.

En résumé, la cornée possède tout l'équipement enzymatique nécessaire à un catabolisme glucidique particulièrement actif.

2° ENZYMES DE L'ANABOLISME GLUCIDIQUE.

Par opposition aux phénomènes cataboliques qui ont suscité les travaux précités, l'attention des auteurs semble s'être peu arrêtée sur la possibilité de synthèse dans ce domaine.

En 1960, PRAUS et coll. (431) étudient dans la cornée de Cobaye la biosynthèse du glycogène aux dépens du glucose. DOHLMAN, 1957 (144), mentionne l'incorporation du $^{35}\text{SO}_4$ dans les mucopolysaccharides au niveau des cellules du stroma. De même, pour OFFRET et coll., 1962, 1963 (396, 397), examinant la biosynthèse des mucopolysaccharides cornéens, la fixation du $^{35}\text{SO}_4$ au niveau de la substance propre est très importante. Le métabolisme des mucopolysaccharides est très actif. Parmi les facteurs pouvant modifier la biosynthèse des mucopolysaccharides, il convient de citer les vitamines et les hormones. D'après ces auteurs, la vitamine C semble être un facteur nécessaire à la formation des esters sulfuriques. La cortisone inhibe la synthèse des mucopolysaccharides sulfatés et non sulfatés; les androgènes et les œstrogènes la stimulent. La thyroxine diminue la synthèse et la thyroestimuline l'augmente.

Enfin OBENBERGER et PRAUS, 1964 (394), ont également suivi chez le Lapin l'incorporation du $^{35}\text{SO}_4$ dans les mucopolysaccharides au niveau de cornées normales ou après abrasion totale ou partielle de la couche épithéliale.

III. — METABOLISME LIPIDIQUE

1° LIPASES ET HYDROLASES DIVERSES.

En 1956, HATTORI (210) mentionne la présence de lipases au niveau de la cornée. En outre, une activité estérasique est mise en évidence chez l'Homme, le Bœuf, le Lapin, le Poulet [de BERARDINIS et de VINCENTIUS, 1950 (67); BERGGREN, 1957 (69); MIMURA et coll., 1963 (365)].

Peu de travaux examinent la cholinestérase cornéenne, tout au plus peut-on citer la présence de l'enzyme dans la cornée d'Amphibien [ARMSTRONG, 1942 (18)] et de Lapin [BRUCKE et coll., 1949 (83); PETERSEN et coll., 1965 (414)].

MEYER, 1948 (355), décèle la présence d'une sulfatase qui hydrolyse le groupement sulfate de l'acide hyaluronique et WORTMAN, 1961, 1962 (572, 573), relève respectivement chez le Bœuf et le Lapin une aryl sulfotransférase et quatre formes d'aryl sulfatase hydrolysant le nitrocatéchol sulfate et le para nitrophényl sulfate.

Une β -glucuronidase est signalée dans les cornées de Rat, Lapin et Bœuf [FRIEDENWALD et coll., 1948 (182); BECKER et coll., 1950 (56); TAKAGI et coll., 1954 (515); MIMURA et coll., 1963 (365); SHANTHAVEERAPPA et coll., 1963, 1964 (486, 490)].

Les phosphatases occupent une place très importante parmi les enzymes de la cornée aussi bien chez l'Homme que chez les différentes espèces animales, tout au moins en ce qui concerne la phosphatase alcaline. La présence de phosphatase acide a été également décelée mais en quantité moindre. Il n'est pas possible ici de rappeler les très nombreux travaux relatifs à ces activités enzymatiques et nous renvoyons le lecteur au chapitre traitant des phosphomonoestérases [SULLMANN, 1947 (508); FRANÇOIS et RABAËY, 1951 (169); BERGGREN, 1957 (69); LESSEL et KUWABARA, 1964 (328)].

2° ENZYMES DE L'ANABOLISME LIPIDIQUE.

Nous avons déjà vu que le contenu lipidique de l'épithélium cornéen (4,3 p. cent du poids sec) est environ 100 fois plus important que celui du stroma. Un complexe phospho-lipidique y est également décelé dans les cellules basales [LA TESSA et coll., 1954 (315)].

Les renseignements que nous possédons au sujet de l'anabolisme lipidique sont trop fragmentaires pour être rapportés. Il serait pourtant intéressant de connaître l'interférence de cet anabolisme avec certaines dyslipoidoses.

IV. — METABOLISME PROTIDIQUE

1° ENZYMES DU CATABOLISME PROTIDIQUE.

Quelques enzymes susceptibles d'intervenir dans le catabolisme protidique ont été décelées dans la cornée. Ainsi, en allant des substrats les plus simples aux plus complexes, il est possible de citer : l'histaminase, dont l'activité est très faible ou même nulle selon les espèces [AURICCHIO, 1955 (22)], la glutathion réductase, mise en évidence chez le Lapin, le Chat et le Rat [KUHLMAN et coll., 1959 (299, 302); PIRIE, 1960 (421)], la glutamate déhydrogénase chez le Lapin et le Rat [BAUM, 1963 (54)], les transaminases G.O.T. et G.P.T. chez diverses espèces animales [TESTA, 1960 (522); MUTOH, 1960 (380); MIMURA et coll., 1963 (365)], certaines peptidases [ABDERHALDEN et coll., 1938 (1)]. Par contre, la cornée ne contient ni protéases et protéinases, ni trypsine, chymotrypsine et cathepsines. Mais en 1963, MICHUJI KOMOTO (360) signale chez le Poulet et le Porc l'activité fibrinolytique de la cornée.

2° ENZYMES DE L'ANABOLISME PROTIDIQUE.

Quelques travaux ont été consacrés à l'étude de la synthèse des protides par la cornée, à l'aide de méthodes aux radio-isotopes.

Ainsi, NOVER et SCHULTZE, 1960 (392), suivent chez le Lapin, le Rat et la Souris l'incorporation d'acides aminés marqués en ^{35}S ou ^{14}C et de leucine marquée en ^3H . L'intensité métabolique la plus forte est trouvée au niveau des cellules épithéliales et endothéliales de la cornée; le stroma présente un métabolisme protéique beaucoup plus lent.

En 1964, FRENCH et DUMA (179) étudient chez le Lapin, *in vitro*, l'incorporation de proline et de glycine marquées au ^{14}C , dans des cultures de cellules de stroma; un parallélisme est établi avec les résultats observés *in vivo*. Dans ce dernier cas, d'après ces auteurs, les activités de l'endothélium et de l'épithélium sont respectivement double et triple de celle du stroma.

3° ENZYMES DU MÉTABOLISME DES ACIDES NUCLÉIQUES ET DES NUCLÉOTIDES.

Comme nous l'avons indiqué précédemment, la cornée contient des acides nucléiques, localisés principalement au niveau de la couche épithéliale. Nous n'avons cependant que peu de références concernant la présence de ribonucléase ou de désoxyribonucléase. SULLMANN, 1947 (509), met en évidence l'hydrolyse des acides nucléiques en présence de préparations de cornées de Veau, Porc et Lapin.

Le métabolisme des acides nucléiques a été étudié *in vitro* sur des cornées desséchées, par ZIGMAN et coll., 1963 (586), à l'aide de méthodes aux radio-isotopes. Ces auteurs montrent que l'épithélium seul incorpore ^{32}P à la fois dans le RNA et dans le DNA. Si l'incubation se fait avec des cornées entières, l'incorporation de ^{32}P est moindre, ceci par suite de la présence du stroma.

Des nucléotidases ont été signalées dans différents travaux. Ainsi SULLMANN, 1947 (509), note l'hydrolyse de l'adénosine-5-monophosphate en présence de préparations de cornées de Veau, Porc et Lapin. Une 5-nucléotidase décrite chez le Lapin par WAKAE, 1963 (558), dans l'épithélium et le stroma de la cornée conservée est également retrouvée par LESSEL et KUWABARA, 1964 (328), chez diverses espèces de vertébrés.

L'intérêt se concentre enfin sur l'adénosine triphosphatase signalée dans les différentes couches de la cornée par un grand nombre d'auteurs, soit chez l'Homme, soit chez diverses espèces animales parmi lesquelles le Veau, le Porc, le Chien, le Lapin, le Cobaye [ALLEN et FRIEDENWALD, 1953 (10); BELLONE et FARALDI, 1964 (57); SHANTHAVEERAPPA et BOURNE, 1964 (487); LESSEL et KUWABARA, 1964 (328); KAYE et PAPPAS, 1964 (260)]. En 1961, SZWARC (514) montre que l'activité adénosine triphosphatasique est diminuée au niveau de greffons cornéens lyophilisés.

La cornée contient également une nucléoside phosphatase qui, d'après SMELSER et OZANICS, 1965 (497), jouerait un rôle important dans les phénomènes de transparence.

V. — TRANSPARENCE

La transparence constitue la qualité primordiale de la cornée et différentes hypothèses tentent d'expliquer ce phénomène.

A priori, cette transparence peut paraître paradoxale pour deux raisons. D'une part, la structure histologique de la cornée est peu différente de celle de la sclérotique qui est opaque et, d'autre part, sa structure physico-chimique est très différente de celle des matières transparentes habituelles.

D'après certains auteurs, parmi lesquels HART, 1947 (209), la cornée peut être considérée comme un « système colloïdal lyophile » et chaque fois que l'indice de réfraction de l'eau contenue normalement dans le tissu devient différent de celui des micelles colloïdales, il y a opacification de la cornée.

Pour SCUDERI, 1950 (475), l'explication « optique » de l'opacification peut se résumer ainsi : le passage de l'eau à l'intérieur de la cornée détermine le gonflement des micelles colloïdales du stroma dont l'indice de réfraction augmente, alors que celui du liquide interstitiel demeure inférieur; la cornée ne possédant plus alors un indice de réfraction homogène, les rayons lumineux qui la frappent ne sont plus réfléchis par les deux surfaces limitantes, mais chaque lamelle fibreuse devient une surface réfléchissante pour les rayons perdus. Ainsi, pour tout faisceau de lumière qui tombe sur la cornée, se forment de très nombreux rayons qui retournent vers la source lumineuse. D'après cet auteur, la transparence est donc bien fonction de l'indice de réfraction de la membrane, et cette dernière demeure transparente aussi longtemps que son contenu en eau reste en telle proportion que l'indice de réfraction du tissu est voisin de celui du liquide interstitiel.

Les travaux très anciens faisaient déjà ressortir que la cornée possède une biréfringence structurelle, ce qui suppose que les deux éléments du stroma, collagène et substance interstitielle, ont un indice de réfraction différent. Cette biréfringence augmente lorsque le globe oculaire est comprimé, la membrane prend alors un aspect laiteux qui disparaît aussitôt que cesse la compression. De plus, le phénomène de la double réfringence en lumière polarisée confirme optiquement l'existence dans la cornée d'une structure inframicroscopique non homogène, mais orientée.

Cette théorie a été reprise partiellement par MAURICE, 1957 (345). Cet auteur suppose que les fibres collagènes ne sont pas disposées au hasard dans la substance fondamentale. « Il assimile chaque ruban de fibre à un réseau de diffraction constitué de fibrilles parallèles, d'indice supérieur à celui du milieu, de diamètre uniforme et séparées entre elles par des intervalles inférieurs aux longueurs d'onde de la lumière. Une telle grille de diffraction n'affecterait pas la transmission des rayons incidents, car la lumière diffractée par chaque barre de la grille interfère avec celle qui est diffractée par les barres voisines, et elle est presque intégralement reconstituée. » Ainsi s'expliquerait, d'après cet auteur, la transparence cornéenne.

D'après MISSOTEN, 1964 (368), cette hypothèse explique de façon particulièrement satisfaisante le trouble qui apparaît lors du gon-

flement de la cornée. Ce gonflement serait dû à une perturbation dans la disposition régulière des fibres collagènes, suite à la dilatation du réseau dans le sens antéro-postérieur.

Différents auteurs soulignent le rôle joué dans les phénomènes de transparence de la cornée par certains de ses constituants chimiques ainsi que par l'existence à son niveau d'un métabolisme actif.

Dès 1951, Van HOFF (231) soupçonne que le contenu mucoïde de la cornée est en partie responsable de sa transparence. L'étude comparative de ce mucoïde dans la cornée et la sclérotique du fœtus a permis de signaler une synchronisation entre l'apparition ou l'accroissement des mucopolysaccharides et la transparence [AURELL et HOLMGREN, 1953 (21)]. En outre, le taux d'hexosamine, directement proportionnel à la quantité de mucopolysaccharides, augmente dans la cornée du fœtus qui s'éclaircit parallèlement, alors qu'il diminue dans la sclérotique qui s'opacifie [SMITS, 1957 (499)].

Nous savons qu'un degré d'hydratation défini de la substance fondamentale est la condition de la transparence. La plus grande partie de l'eau étant fixée sur les molécules de mucopolysaccharides, il nous est aisé de concevoir que la concentration et l'état de ces derniers soient un facteur primordial de la transparence cornéenne [OFFRET et coll., 1962, 1963 (396, 397)].

VI. — ECHANGES HYDRIQUES ET HYDRATATION

Le problème de l'hydratation cornéenne, étroitement lié au précédent, est en fait assez complexe. Pour pouvoir l'expliquer, il faut se rendre compte que la cornée normale maintient constante sa teneur en eau, tout en étant continuellement baignée sur chacune de ses faces par deux liquides, l'humeur aqueuse et les larmes, qui ont une pression osmotique et une composition chimique différentes de celles du liquide qui imprègne la membrane elle-même.

Des théories déjà anciennes admettaient le passage de l'humeur aqueuse à travers le stroma. Ce passage normal et permanent de liquide se serait produit plus particulièrement à la périphérie de la cornée. Cette hypothèse a été reprise par la suite par Von BAHR, 1941 (24), cherchant à établir la quantité d'humeur aqueuse qui passe à l'extérieur de l'œil. Cet auteur, faisant arriver de l'air sec sur une cornée, trouve que l'air prend sur la surface cornéenne une certaine quantité d'eau. Ces travaux ont été longuement critiqués par SCUDERI, 1950 (475), qui signale que ces recherches, conduites cependant dans des conditions très voisines des conditions physiologiques normales, ne semblent pas arriver à des conclusions acceptables. Elles ne prouvent pas, si ce n'est par hypothèse, que c'est bien l'humeur aqueuse qui traverse la cornée et rend humide l'air sec utilisé.

Le plus, il est possible d'envisager, d'une part, que le liquide qui humidifie l'air sec provienne du liquide lacrymal qui baigne

normalement la cornée et ensuite des cellules mêmes de l'épithélium qui se nécrosent. L'obstacle épithélial étant alors aboli, il est normal que, dans un deuxième temps, l'eau qui passe dans l'air sec provienne alors du stroma. D'autre part, il se peut également, qu'après une période d'exposition à l'air, la cornée déshydratée n'entre plus en jeu et que la conjonctive périkeratique irritée soit le siège d'une hyperhémie plus ou moins prononcée et donne lieu à un transudat plus important.

Par la suite, de nombreux travaux ont essayé de décrire le mécanisme de cette déshydratation relative permanente, sans toutefois y parvenir pleinement.

Ainsi, COGAN et coll., 1942 (102, 103), DUANE, 1949 (149, 150), signalent l'épithélium et l'endothélium comme des membranes semi-perméables. Ces auteurs font ressortir que la cornée reçoit par filtration à partir des vaisseaux du limbe, les produits nécessaires à son métabolisme; elle est baignée par les larmes et l'humeur aqueuse qui sont hypertoniques par rapport au liquide interstitiel. L'eau transudée des vaisseaux du cercle périkeratique est alors sou tirée par osmose et la pression de gonflement au niveau du stroma se trouve ainsi contrebalancée. D'après cette hypothèse, appelée *théorie dynamique* du liquide cornéen, la déturgescence de la membrane, qui physiologiquement distingue la cornée de la sclérotique, serait réglée par des forces osmotiques et représenterait la résultante de l'équilibre entre elles et le pouvoir d'imprégnation du tissu.

En réalité, l'eau diffuse bien en toutes directions et à travers les diverses couches cornéennes. Le stroma, qui constitue la partie la plus importante de la cornée, exerce de ce fait la plus grande résistance à cette diffusion.

D'après MAURICE, 1953 (344), la cornée neutralise la pression de gonflement du stroma grâce à son propre métabolisme en sécrétant l'eau en excédent par un phénomène actif. La cornée agirait alors comme une glande sécrétant de l'eau. L'auteur la compare à « un navire qui ferait eau et qui devrait pour ne pas sombrer pomper cette eau en permanence et la rejeter à l'extérieur ». De même, selon SCHWARTS et coll., 1954 (474), le maintien d'un contenu d'eau constant dans la cornée est un processus qui dépense de l'énergie et qui dépend de l'activité métabolique du tissu. Cette énergie est également nécessaire pour prévenir l'hydratation et la déshydratation de la membrane; elle intervient aussi pour faire disparaître un apport d'eau trop considérable lors d'un métabolisme défectueux. D'après ces auteurs, la modification de la teneur en eau est un des processus les plus importants dans la physiopathologie de la cornée.

Il est à noter que l'influence exercée par le métabolisme sur l'hydratation cornéenne a retenu l'attention de nombreux chercheurs, parmi lesquels : DESVIGNES, 1953 (137); DAVSON, 1955 (132); PHILPOT, 1955 (416); HARRIS et coll., 1955, 1956, 1957 (204, 206, 207, 208); LANGHAM et TAYLOR, 1956 (314); ANSETH et DOHLMAN, 1957 (14); MAURICE, 1962 (346); LANGHAM, 1962 (313); POTTS, 1962

(429) ; DONN et coll., 1963 (146).

Il semble que l'effet produit par la température sur le gonflement cornéen soit le plus bel exemple à citer pour montrer avec quelle facilité les variations du métabolisme peuvent arriver à modifier le contenu liquide de la cornée [DAVSON, 1955 (132) ; HARRIS et coll., 1955, 1956 (206, 208) ; LAVERGNE, 1963 (317)].

Une réduction de température influence l'hydratation de la membrane; en effet, quand un œil énucléé est placé dans une chambre humide à 0° C, la cornée gonfle rapidement et l'hydratation peut atteindre jusqu'à 175 p. cent de la valeur normale. Cette accumulation de liquide, qui provient de l'humeur aqueuse, est due en grande partie à la réduction de l'activité métabolique pendant la réfrigération. Quand la température est de 0° C, l'eau, les ions Na⁺ et K⁺ filtrent dans la cornée; cependant l'augmentation de l'hydratation n'est pas due uniquement à un mouvement de liquide ayant approximativement la composition de l'humeur aqueuse mais plutôt à un mouvement préférentiel de l'eau seule. La cornée ne reprend partiellement ou complètement son état normal que lorsque la température atteint 37° C, et en présence d'oxygène; l'excrétion de l'eau se produit alors et varie inversement à la pression intra-oculaire. Quand cette dernière est réduite par rapport à la normale, l'excrétion est importante et le contenu en eau de la cornée diminue.

De plus, l'oxygène est indispensable pour maintenir une hydratation normale, l'excrétion de l'eau et de l'ion Na⁺ à 37° C est bloquée quand l'oxygène est exclu. Les travaux de LANCHAM et TAYLOR, 1956 (314) montrent que l'hydratation dépend de la respiration. En l'absence d'oxygène, il y a une énergie suffisante en réserve dans la cornée d'un œil énucléé, pour prévenir le gonflement pendant quelques heures; cependant, d'après ces auteurs, le métabolisme aérobie est essentiel et l'inhibition de la phosphorylation oxydative conduit à un gonflement immédiat de la membrane.

En outre, nous devons signaler ici l'importance de l'intégrité fonctionnelle des couches limitantes, pour maintenir un degré d'hydratation normale. Une déshydratation relative demande un épithélium et un endothélium intacts, représentant alors un barrage partiel à la circulation de liquide à travers la membrane. Le degré d'hydratation des deux couches limitantes est en rapport avec la composition des électrolytes et avec leurs concentrations dans les larmes et l'humeur aqueuse et il est possible qu'un système enzymatique préside à cette fonction. Le rôle joué par le métabolisme épithélial dans la circulation de liquide à travers la cornée est peu important comparé à celui de l'endothélium [COGAN et KINSEY, 1942 (102) ; DESVIGNES, 1953 (137) ; HARRIS et GRUBER, 1956 (207) ; HARRIS, 1957, 1962 (204, 205)].

Les travaux de LANCHAM, 1960 (312) font ressortir que l'influence du métabolisme sur l'hydratation cornéenne diffère de façon marquée selon que les expériences sont conduites *in vitro* ou *in vivo*. En opposition avec les résultats obtenus sur un œil énucléé, il appa-

raît que chez le Lapin vivant, par exemple, le métabolisme cornéen peut diminuer sans pour cela occasionner une augmentation appréciable de l'hydratation de la membrane, et cela pour des expériences de moins de 5 heures.

Le mécanisme par lequel le métabolisme influence le mouvement de liquide à travers la cornée prête encore à discussion. Les différents travaux entrepris sur ce sujet font ressortir que la sécrétion de liquide s'effectue bien à travers les cellules épithéliales et endothéliales mais il n'apparaît pas clairement que le stroma joue un rôle dans ce processus actif. De plus, le problème est compliqué par le fait que les lésions des couches limitantes peuvent non seulement modifier la dépendance du métabolisme entre les trois couches mais également occasionner une augmentation notable de la perméabilité.

VII. — NUTRITION

La cornée normale ne contient pas de vaisseaux, car la vascularisation sanguine s'arrête au niveau de la zone limbique. Sa nutrition est donc assurée par le liquide interstitiel qui provient des vaisseaux lymphatiques et sanguins du cercle péricératique, par l'humeur aqueuse et par les larmes [SCUDERI, 1950 (475); THOMAS, 1955 (525); MAURICE, 1962, 1965 (346, 347)].

La quantité de lymphes présente dans la cornée est réglée par les conditions de perméabilité de ces vaisseaux et cette régulation est un coefficient nécessaire au maintien de la transparence. L'apport nutritif sanguin venant du limbe a été très souvent discuté; les artères ciliaires antérieures ne jouent pas un rôle capital dans les processus de nutrition [VOTOCKOVA, 1962 (553)], mais les artères ciliaires postérieures sont plus importantes que les réseaux péri-limbique, épi et intrascléral [KLIMA, 1962 (274)].

Pour RIDLEY, 1930 (441), TAOKA, 1957 (518) et KLIMA, 1962 (274), un rôle important dans la nutrition de la cornée reviendrait à l'humeur aqueuse. Cette conception n'est pas entièrement exacte, car si l'humeur aqueuse est une source nutritive, son rôle est minime; en effet, il ne faut pas oublier l'obstacle endothélial qu'elle doit franchir, sens intérieur-extérieur.

D'après THOMAS, 1955 (525) le problème de la nutrition cornéenne est étroitement lié à la perméabilité des couches épithéliale et endothéliale, à la barrière sang-humeur aqueuse et à la balance eau-électrolytes. D'après cet auteur, la sécrétion lacrymale ou fluide précornéen constitue une troisième source nutritive et l'emploi d'isotopes radio-actifs lui a permis d'élucider le chemin emprunté par les matières nutritives pour diffuser dans la cornée.

En conclusion, il apparaît que les activités enzymatiques cornéennes jouent un rôle important dans le métabolisme et dans les fonctions physiologiques de la cornée. Ceci est un problème aux multiples aspects et dont les différentes modalités sont encore loin d'être élucidées.

DEUXIÈME PARTIE



RECHERCHES EXPÉRIMENTALES

Les substrats purissimes utilisés au cours de notre expérimentation ont été fournis par les Laboratoires :

- *B.D.H. Laboratory Chemicals Division, Poole, England.*
- *Boehringer - Soehne, Mannheim, Germany.*
- *Fluka A.G., Buchs S.G., Switzerland.*
- *Merck E., Darmstadt, Germany.*
- *Nutritional Biochemicals Corporation, Cleveland, Ohio, U.S.A.*
- *Sigma Chemical Company, Saint-Louis, Missouri, U.S.A.*

ÉTUDE BIOCHIMIQUE

GÉNÉRALITÉS

I. — *PRELEVEMENTS*

Les yeux que nous avons utilisés pour notre expérimentation sont des yeux de bovidés. Ils sont prélevés dès l'abattage des animaux et les cornées sont recueillies au plus tard dans l'heure qui suit. Nous pouvons les classer en trois catégories, selon l'âge des animaux :

- veaux (6 mois environ).
- adultes jeunes : châtcons et génisses (2 ans).
- adultes âgés (10 ans).

Cette classification nous permet d'apprécier éventuellement une variation des activités enzymatiques en fonction de l'âge des animaux.

II. — *PREPARATIONS ENZYMATIQUES.*

Dans chaque catégorie d'yeux, nous opérons toujours sur des lots de 10 à 14 cornées par essai et pour procéder à la préparation des solutions enzymatiques, nous avons retenu la technique de GLOSTER, 1955 (189) quelque peu modifiée. Les cornées sont prélevées de telle sorte que la zone limbique soit entièrement éliminée de façon à obtenir des membranes strictement avasculaires. Après un lavage rapide à l'aide de soluté physiologique isotonique, les membranes cornéennes sont alors séchées puis divisées en menus fragments, lesquels, après avoir été pesés, sont additionnés en proportions convenables d'eau distillée préalablement maintenue au réfrigérateur à $+ 4^{\circ}$ C. Un broyage de 4 à 5 minutes effectué à l'« Ultra-Turrax », permet d'obtenir un broyat parfaitement homogène; les homogénats sont alors centrifugés à 5.000 t/min. pendant 60 minutes à une température de $+ 4^{\circ}$ C dans l'International Refrigerated Centrifuge, type PR₂. Les *surnageants* obtenus constituent les *préparations enzymatiques* qui seront diluées en proportions convenables selon la technique de dosage mise en jeu.

III. — *EXPRESSION DES RESULTATS.*

Pour chaque activité enzymatique examinée, après avoir exposé le principe de la technique d'étude, les précisions pour la préparation des réactifs utilisés, les détails du protocole opératoire, nous

présentons un tableau condensé des résultats expérimentaux où sont indiqués :

- la nature et le taux de dilution de la préparation enzymatique.
- l'âge moyen des animaux.
- le nombre de cornées utilisées pour chaque essai.
- le nombre d'expériences effectuées.
- le temps d'incubation au bain-marie.
- la moyenne arithmétique M des résultats, exprimés en *pourcentage de substrat métabolisé* dans les conditions d'expérimentation.
- l'écart standard σ pour chaque moyenne, caractérisant la dispersion des résultats, établi selon la formule :

$$\sigma = \sqrt{\frac{\Sigma (M-Mx)^2}{n-1}} \text{ dans laquelle :}$$

- Σ = somme.
 - M = moyenne arithmétique des résultats.
 - Mx = résultat partiel.
 - n = nombre d'expériences.
-

ACTIVITÉ LACTATE DÉHYDROGÉNASIQUE

I. — GENERALITES

La lactate déhydrogénase, connue également sous le nom de pyruvate-réductase ou de lactate-NAD-oxydoréductase catalyse la réaction suivante :



Cette réaction constitue une étape primordiale dans le catabolisme glucidique en anaérobiose.

La mesure de l'activité lactate déhydrogénasique constitue un test important dans le diagnostic de l'infarctus du myocarde, des hépatites aiguës, des myopathies et de certaines leucémies. Les variations pathologiques de cette activité enzymatique ont à peu près la même signification clinique que celles observées dans le cas des amino-transférases G.O.T. et G.P.T. et de la fructose diphosphate aldolase (112, 434).

II. — DOSAGE

La lactate déhydrogénase est connue depuis longtemps, mais les techniques pratiques de dosage sont récentes (434) ; nous avons utilisé la méthode de BERGER et BROIDA (68) reprise par CABAUD et WROBLEWSKY (86) avec quelques modifications de détails (434).

a) PRINCIPE :

La lactate déhydrogénase transforme en présence de NADH_2 , l'acide pyruvique en acide lactique et NAD. L'acide pyruvique restant, réagit avec la 2-4 dinitrophénylhydrazine, pour former une hydrazone dont la coloration est appréciée au photocolorimètre à 525 m μ . Les autres composés sont incolores.

b) RÉACTIFS :

— *Solution tampon de phosphates de pH 7,8, selon Soerensen* : mélanger en proportions convenables $\text{PO}_4\text{H}_2\text{K}$ à 9,078 g.p.l. (8,5 ml) et PO_4HNa_2 , 12 H_2O à 23,870 g.p.l. (91,5 ml). Conserver à $+ 4^\circ \text{C}$.

TABLEAU I

ACTIVITÉ LACTATE DÉHYDROGÉNASIQUE

(Pourcentage de substrat métabolisé)

Préparations enzymatiques	Age moyen	Nombre de cornées par expérience	Nombre d'expériences	Temps d'incubation (en minutes)				
				15		30		
				M	σ	M	σ	
Activité spontanée				0		0		
Surnageants d'homogénats dilués au 1/200 ^e	6 mois 2 ans 10 ans	10-14 10-12 10	9 7 7	31,0	3,2	49,0	4,2	
				35,0	4,0	54,0	4,6	
				35,0	6,2	53,0	7,0	
Dilués au 1/400 ^e	6 mois 2 ans 10 ans	10-14 10-12 10	9 7 7	15,0	4,9	23,0	7,7	
				19,0	6,7	30,0	2,9	
				14,4	3,7	27,0	6,7	
Dilués au 1/600 ^e	6 mois 2 ans 10 ans	10-14 10-12 10	9 7 7	9,0	3,8	13,0	5,8	
				12,0	5,7	21,5	2,3	
				9,0	2,6	14,5	4,4	
Dilués au 1/800 ^e	6 mois 2 ans 10 ans	10-14 10-12 10	9 7 7	2,3	1,2	4,8	2,2	
				5,0	1,9	8,7	2,6	
				2,7	1,2	5,5	1,6	

— *Solution de pyruvate de sodium* à 11 mg par 100 ml de solution tampon phosphate. Se conserve moins de deux semaines à + 4° C.

— *Solution de nicotinamide adénine dinucléotide réduit* (NADH₂) à 10 mg pour 1 ml d'eau distillée glacée. A préparer extemporanément et à utiliser immédiatement. Ne se conserve pas.

— *Solution de soude 0,4 N.* Conserver à + 4° C.

— *Solution de 2-4 dinitrophénylhydrazine* (2-4 D.N.P.H.) :

2-4 D.N.P.H. 200 mg.

HCl concentré 85 ml.

Eau distillée Q.S. 1 litre.

Conserver à l'abri de la lumière, à + 4° C.

c) MODE OPÉRATOIRE :

Préparer :

— *Témoin n° 1*, non incubé (réglage du photocolorimètre) : 1 ml de solution de pyruvate de sodium, 0,1 ml de préparation enzymatique et 0,1 ml d'eau distillée.

Faire incuber pendant 15 minutes et 30 minutes, dans un bain-marie équipé d'un thermostat Thermomix réglé à + 37° C :

— *Chaque essai* (activité enzymatique) : 1 ml de solution de pyruvate de sodium, 0,1 ml de préparation enzymatique et 0,1 ml de solution de NADH₂.

— *Témoin n° 2* (activité spontanée) : 1 ml de solution de pyruvate de sodium, 0,1 ml d'eau distillée et 0,1 ml de solution de NADH₂.

Au terme de l'incubation, ajouter dans tous les tubes (essais et témoins) 1 ml de 2-4 D.N.P.H. pour stopper la réaction. Agiter, laisser reposer 20 minutes à la température du laboratoire (20° C environ). Ajouter 10 ml de NaOH 0,4 N. Agiter. Après 10 à 15 minutes environ, apprécier la coloration obtenue au photocolorimètre à 525 m μ .

L'étalonnage est effectué à l'aide de la solution de pyruvate de sodium, dont les volumes de 0 - 0,1..... 0,9 - 1 ml additionnés de 1,2 - 1,1..... 0,3 - 0,2 ml d'eau distillée et traités comme indiqué ci-dessus, correspondent respectivement à 100 - 90..... 10 - 0 p. cent d'activité.

III. — RESULTATS

Les résultats concernant l'activité lactate déhydrogénasique au niveau de la cornée chez les bovidés, figurent au tableau I; l'acti-

tivité constatée chez l'animal adulte, se révèle supérieure à celle qui est décelée chez le jeune Veau.

Bien que relativement importante, cette activité se révèle très inférieure à celle de la rétine de bovidés (115) (surnageants d'homogénats au 1/1000^e : 25 à 31 p. cent d'activité, après 30 minutes d'incubation) ou à celle du rein de Souris par exemple (38) pour lequel une dilution au 1/800^e correspond à une activité de 47 p. cent, dans les mêmes conditions expérimentales.

ACTIVITÉ α -HYDROXYBUTYRATE DÉHYDROGÉNASIQUE

I. — GENERALITES

La présence d' α -hydroxybutyrate déhydrogénase a été décelée dans de nombreux tissus animaux et chez l'Homme au niveau d'organes tels que : cœur, foie, poumon et rein ainsi que dans le sérum et les hématies (287). De plus, différents auteurs ont pu mettre en évidence les variations pathologiques du taux sérique de cette enzyme, en particulier au cours d'infarctus du myocarde (152, 287).

II. — DOSAGE

a) PRINCIPE :

L'activité α -hydroxybutyrate déhydrogénasique est appréciée d'après la technique de ROSALKI (458). En présence de NADH_{22} , l' α -cétobutyrate est réduit par l'enzyme en α -hydroxybutyrate. La réaction est stoppée par la 2-4 dinitrophénylhydrazine qui réagit avec l' α -cétobutyrate restant pour former l'hydrazone α -cétobutyrique colorée en jaune brun en milieu alcalin.

b) RÉACTIFS :

— *Solution tampon de phosphates M/15 de pH 7,4* : mélanger en proportions convenables $\text{PO}_4\text{HNa}_{23}$, 12 H_2O à 23,87 g.p.l. (80,2 ml) et $\text{PO}_4\text{H}_2\text{K}$ à 9,08 g.p.l. (19,8 ml). Conserver à $+ 4^\circ \text{C}$.

— Solutions de substrat :

1) *Solution-mère d' α -cétobutyrate 0,1 M* : dissoudre 1,02 g d'acide α -cétobutyrique dans 30 ml de solution tampon, ajuster le pH à 7,4 à l'aide d'une solution saturée de potasse et compléter à 100 ml avec la solution tampon. Répartir en flacons de polythène et conserver à $- 25^\circ \text{C}$.

2) *Solution diluée de substrat* : obtenue par dilution au 1/100^e de la solution-mère, dans la solution tampon de phosphates de pH 7,4. Répartir en flacons de polythène et conserver à $- 25^\circ \text{C}$ (stable 1 mois).

TABLEAU II

ACTIVITÉ α -HYDROXYBUTYRATE DÉHYDROGÉNASIQUE

(Pourcentage de substrat métabolisé)

Préparations enzymatiques	Age moyen	Nombre de cornées par expérience	Nombre d'expériences	Temps d'incubation (en minutes)				
				15		30		
				M	σ	M	σ	
Activité spontanée				0		0		
Surnageants d'homogénats dilués au 1/25 ^e	6 mois	10-14	8	27,5	3,7	43,8	3,3	
	2 ans	10-12	8	31,4	3,4	48,4	2,6	
	10 ans	10	9	33,7	2,5	50,0	4,5	
Dilués au 1/50 ^e	6 mois	10-14	8	13,3	1,9	22,8	2,6	
	2 ans	10-12	8	15,5	1,7	23,3	1,0	
	10 ans	10	9	16,2	3,3	26,2	4,2	
Dilués au 1/100 ^e	6 mois	10-14	8	6,4	1,9	10,9	1,5	
	2 ans	10-12	8	7,8	2,0	13,1	2,4	
	10 ans	10	9	9,5	1,8	14,3	2,4	
Dilués au 1/200 ^e	6 mois	10-14	8	2,0	0	4,8	0,8	
	2 ans	10-12	8	2,0	0	5,0	1,4	
	10 ans	10	9	3,8	1,1	5,8	2,1	

— *Solution de nicotinamide adénine dinucléotide réduit* (NADH_2) à 10 mg pour 1 ml d'eau distillée glacée. A préparer extemporanément et à utiliser immédiatement. Ne se conserve pas.

— *Solution de 2-4 dinitrophénylhydrazine* (2-4 D.N.P.H.) :

2-4 D.N.P.H.	400 mg.
HCl concentré	85 ml.
Eau distillée Q.S.	1 litre.

Conserver à l'abri de la lumière, à $+ 4^\circ \text{C}$.

— *Solution de soude 0,4 N*. Conserver à $+ 4^\circ \text{C}$.

c) MODE OPÉRATOIRE :

Préparer 2 témoins (non incubés) :

— *Témoin n° 1* (réglage du photolorimètre) : 1 ml de solution diluée de substrat et 0,2 ml de solution tampon de pH 7,4.

— *Témoin n° 2* (présence d'une coloration éventuelle dans la préparation) : 1 ml de solution diluée de substrat, 1 ml de solution de 2-4 D.N.P.H., 0,1 ml de préparation enzymatique et 0,1 ml de solution de NADH_2 .

Faire incuber pendant 15 minutes et 30 minutes, dans un bain-marie équipé d'un thermostat Thermomix, réglé à $+ 37^\circ \text{C}$:

— *Chaque essai* (activité enzymatique) : 1 ml de solution diluée de substrat, 0,1 ml de préparation enzymatique et 0,1 ml de solution de NADH_2 .

— *Témoin n° 3* (activité spontanée) : 1 ml de solution diluée de substrat, 0,1 ml de solution tampon de pH 7,4 et 0,1 ml de solution de NADH_2 .

Au terme de l'incubation, ajouter dans tous les tubes (essais et témoins n°s 1 et 3) 1 ml de solution de 2-4 D.N.P.H. pour stopper la réaction. Agiter, laisser reposer 20 minutes à la température du laboratoire (20°C environ). Ajouter 10 ml de solution de soude 0,4 N et agiter. Après 10 à 15 minutes environ, apprécier la coloration obtenue au photolorimètre à 490 m μ .

L'étalonnage est effectué au moyen de la solution diluée de substrat, dont les volumes de 0 - 0,1..... 0,9 - 1 ml additionnés de 1,2 - 1,1..... 0,3 - 0,2 ml de solution tampon de pH 7,4 sont traités comme indiqué ci-dessus et correspondent respectivement à 100 - 90..... 10 - 0 p. cent d'activité.

III. — RESULTATS

Les résultats concernant l'activité α -hydroxybutyrate déhydrogénasique au niveau de la cornée chez les bovidés figurent au

tableau II; l'activité décelée est importante et se révèle plus élevée chez l'animal adulte que chez le jeune Veau. Si nous pouvons noter l'absence de cette activité enzymatique dans les humeurs aqueuse et vitrée chez les bovidés (45), les pourcentages indiqués ci-dessus demeurent néanmoins bien inférieurs à ceux obtenus dans les mêmes conditions au niveau de la rétine (45) (surnageants d'homogénats au 1/200^e : 18 à 33 p. cent d'activité après 30 minutes d'incubation).

Comparativement à d'autres tissus, cette activité se révèle très inférieure encore à celle du rein chez le Rat ou la Souris (38) où elle atteint 40 p. cent pour une dilution au 1/200^e, après 30 minutes d'incubation.

ACTIVITÉ GLUCOSE - 6 - PHOSPHATE DÉHYDROGÉNASIQUE

I. — GENERALITES

La découverte de ce système enzymatique découle de l'observation de BARRON, montrant que « le glucose est oxydé par les globules rouges en présence de bleu de méthylène ou de méthémoglobine ». Par la suite, WARBURG et CHRISTIAN démontrent qu'un extrait soluble de globules rouges n'oxyde plus le glucose mais l'ester glucose-6-phosphorique ou ester de Robison. Ces travaux sont très importants, « ils sont à l'origine de la découverte du NADP, des ferments jaunes et du rôle des coenzymes » (249).

La glucose-6-phosphate déhydrogénase a une répartition assez large. Elle a pu être isolée des globules rouges, des érythrocytes et de la levure ainsi que de certaines bactéries; de même, l'enzyme de la glande mammaire en lactation a pu être cristallisée (112, 249).

« Le déficit des hématies en glucose-6-phosphate déhydrogénase se rencontre dans certaines anémies hémolytiques, médicamenteuses ou toxiques; au contraire, cette activité enzymatique augmente dans la sécrétion vaginale, dans les cas de cancers gynécologiques » (112).

II. — DOSAGES

a) PRINCIPE :

L'activité de la glucose-6-phosphate déhydrogénase est appréciée selon la méthode de KORNBERG et HORECKER (289) légèrement modifiée.

Cette enzyme catalyse la réaction suivante :



Le NADPH₂ formé est mesuré au spectrophotomètre de Jobin et Yvon à 340 mμ.

b) RÉACTIFS :

— *Solution tampon de pH 7,6* : dissoudre 9,285 g de Chl^{tr}

TABLEAU III

ACTIVITÉ GLUCOSE-6-PHOSPHATE DÉHYDROGÉNASIQUE

(Pourcentage de substrat métabolisé)

Préparations enzymatiques	Age moyen	Nombre de cornées par expérience	Nombre d'expériences	Temps d'incubation (en minutes)			
				5		10	
				M	σ	M	σ
				0		0	
Activité spontanée							
Surnageants d'homogénats dilués au 1/25*	6 mois 2 ans 10 ans	10-14 10-12 10	7	22,0		42,7	2,9
			6	24,5	2,6	46,8	1,7
			8	23,2	2,0 4,5	43,5	5,7
Dilués au 1/50*	6 mois 2 ans 10 ans	10-14 10-12 10	7	10,8		20,8	2,7
			6	13,5	1,2	26,0	1,0
			8	13,4	0,6 3,1	25,4	5,7
Dilués au 1/100*	6 mois 2 ans 10 ans	10-14 10-12 10	7	5,2		9,9	1,3
			6	6,9	0,2	13,5	1,5
			8	6,2	1,3 1,1	11,7	1,7
Dilués au 1/200*	6 mois 2 ans 10 ans	10-14 10-12 10	7	3,4		5,6	0,6
			6	4,0	0,2	7,0	0,9
			8	3,7	0,5 0,6	6,8	0,8

de triéthanolamine et 1,861 g d'éthylène diamine tétra-acétate de sodium dans 1 litre d'eau distillée. Ajuster le pH à l'aide de la solution de potasse N (environ 1,1 ml). Conserver à $+ 4^{\circ} \text{C}$.

— *Solution de substrat* : $2,05 \cdot 10^{-2} \text{M}$: triturer dans un tube à centrifuger 535,05 mg de G-6-P Ba, 7 H_2O avec 25 ml de CH_3COOH 0,5 M. Ajouter goutte à goutte environ 2 ml de solution de SO_4K_2 0,57 M jusqu'à précipitation totale du baryum. Agiter, centrifuger et vérifier que le surnageant ne précipite plus par addition d'une goutte de solution de SO_4K_2 . Prélever le surnageant et neutraliser goutte à goutte à l'aide de la solution de KOH N. Compléter à 42,5 ml avec de l'eau distillée. Agiter, répartir en flacons de polythène et conserver à $- 25^{\circ} \text{C}$.

— *Solution de nicotinamide adénine dinucléotide phosphate (NADP)* 10^{-2}M à 8,0145 mg pour 1 ml d'eau distillée glacée. A préparer extemporanément.

— *Solution de nicotinamide adénine dinucléotide phosphate réduit (NADPH₂)* 10^{-3}M à 0,869 mg pour 1 ml de solution tampon de pH 7,6. A préparer extemporanément.

— *Solution de potasse N*. Conserver à $+ 4^{\circ} \text{C}$.

— *Solution de sulfate de potasse* 0,57 M (99,18 g.p.l.). Conserver à $+ 4^{\circ} \text{C}$.

c) MODE OPÉRATOIRE :

Préparer :

— *Témoin n° 1*, non incubé (réglage du spectrophotomètre) : 1,8 ml de solution tampon, 1 ml de préparation enzymatique et 0,2 ml d'eau distillée.

Placer dans les cuves du spectrophotomètre, à la température du laboratoire ($+ 20^{\circ} \text{C}$ environ) :

— *Chaque essai* (activité enzymatique) : 1,8 ml de solution tampon, 1 ml de préparation enzymatique et 0,1 ml de solution de NADP. Attendre quelques minutes et ajouter 0,1 ml de solution de substrat G-6-P. Agiter et lire chaque minute, pendant 10 minutes, l'absorption à 340 $\text{m}\mu$.

— *Témoin n° 2* (activité spontanée) : 2,8 ml de solution tampon, 0,1 ml de solution de NADP et 0,1 ml de solution de substrat G-6-P. Opérer comme ci-dessus.

L'étalonnage est effectué à l'aide d'une solution de NADPH₂ 10^{-3}M , dont les volumes de 0 - 0,1..... 0,9 - 1 ml additionnés de 1,1 ml d'eau distillée et de 1,9 - 1,8..... 1 - 0,9 ml de solution tampon, correspondent respectivement à 0 - 10..... 90 - 100 p. cent d'activité.

III. — *RESULTATS*

Les résultats concernant l'activité glucose-6-phosphate déhydrogénasique dans la cornée chez les bovidés, figurent au tableau III; l'activité décelée est importante et augmente légèrement avec l'âge des animaux. Elle est plus intense que celle que nous pouvons noter dans les mêmes conditions expérimentales au niveau de rétines de bovidés (46) où elle n'atteint que 37 à 40 p. cent et elle dépasse largement celle décelée dans le thymus lyophilisé d'Agneau par exemple (30), où nous pouvons relever, pour une dilution au 1/50^e, une activité de 10 p. cent seulement.

ACTIVITÉ CATALASIQUE

I. — GENERALITES

Diverses réactions d'oxydation tissulaire provoquent la formation de peroxyde d'hydrogène toxique pour les cellules et une enzyme, la catalase, le décompose selon la réaction :



Cette enzyme, dont l'action a été décrite pour la première fois par THÉNARD en 1818, est très largement distribuée dans les tissus animaux (112, 249), elle a été isolée cristallisée, du foie, du rein et des érythrocytes. Les bactéries aérobies possèdent une forte activité catalasique mais, d'une façon générale, les tissus végétaux présentent une faible teneur en cette enzyme (249).

II. — DOSAGE

a) PRINCIPE :

L'activité catalasique est appréciée selon la technique de PATTI et BONET-MAURY (406). L'enzyme catalyse la décomposition du peroxyde d'hydrogène en eau et oxygène et le peroxyde d'hydrogène restant en fin d'incubation est dosé par méthode photocolorimétrique à 450 m μ .

b) RÉACTIFS :

— *Solution tampon de phosphates M/15 de pH 7,0* : mélanger en proportions convenables PO_4HNa_2 , 12 H_2O à 23,87 g.p.l. (61 ml) et $\text{PO}_4\text{H}_2\text{K}$ à 9,078 g.p.l. (39 ml). Conserver à + 4° C.

— *Solution de peroxyde d'hydrogène à 0,20 volume* préparée par dilution au 1/500^e dans l'eau distillée, de peroxyde d'hydrogène pur « Electro » Prolabo à 110 volumes. A préparer extemporanément. Vérifier le titrage par manganimétrie.

— *Solution de permanganate de potassium N/10*. Conserver à + 4° C.

— *Réactif titanique* :

Sulfate de titane Prolabo R.P.	10 g.
Eau distillée	50 g.
Acide sulfurique conc.	20 g.

TABLEAU IV

ACTIVITÉ CATALASIQUE

(Pourcentage de substrat métabolisé)

	Age moyen	Nombre de cornées par expérience	Nombre d'expé- riences	Temps d'incubation (en minutes)				
				15		30		
				M	σ	M	σ	
Activité spontanée				ε		4,0		
Surnageants d'homogénats Dilués au 1/100*	6 mois 2 ans 10 ans	10-14 10-12 10	9 7 9	24,7	2,7	33,7	4,3	
				28,0	7,0	37,7	8,3	
				27,8	4,1	36,6	4,7	
Dilués au 1/200*	6 mois 2 ans 10 ans	10-14 10-12 10	9 7 9	13,8	1,8	18,0	2,8	
				15,4	3,5	21,4	4,9	
				16,3	2,5	20,7	2,6	
Dilués au 1/500*	6 mois 2 ans 10 ans	10-14 10-12 10	9 7 9	8,0	2,1	12,0	2,1	
				9,4	2,8	13,0	2,4	
				9,5	2,9	13,3	2,7	
Dilués au 1/1.000*	6 mois 2 ans 10 ans	10-14 10-12 10	9 7 9	4,5	1,3	6,6	0,9	
				5,5	1,7	8,8	2,0	
				5,7	1,4	8,7	1,5	

Laisser reposer 24 heures. Centrifuger et ajouter 20 g d'acide sulfurique concentré. Conserver à $+ 4^{\circ}$ C.

— *Acide sulfurique concentré R.P.*

c) **MODE OPÉRATOIRE :**

Préparer 2 témoins (non incubés) :

— *Témoin n° 1* (réglage du photocolorimètre) : 1 ml de solution tampon de pH 7,0 et 1 ml de solution de peroxyde d'hydrogène à 0,20 volume.

— *Témoin n° 2* (présence d'une coloration éventuelle dans la préparation) : 1 ml de préparation enzymatique tamponnée à pH 7,0 et 1 ml d'eau distillée.

Faire incuber pendant 15 minutes et 30 minutes, dans un bain-marie équipé d'un thermostat Thermomix réglé à $+ 21^{\circ}$ C :

— *Chaque essai* (activité enzymatique) : 1 ml de préparation enzymatique tamponnée à pH 7,0 et 1 ml de solution de peroxyde d'hydrogène à 0,20 volume.

— *Témoin n° 3* (activité spontanée) : 1 ml de solution tampon de pH 7,0 et 1 ml de solution de peroxyde d'hydrogène à 0,20 volume.

Au terme de l'incubation, ajouter dans tous les tubes (essais et témoins) VIII gouttes d'acide sulfurique concentré. Agiter. Prélever 1 ml du mélange et ajouter II gouttes de réactif titanique. Agiter et apprécier la coloration obtenue au photocolorimètre à 450 m μ .

L'étalonnage est effectué à l'aide de la solution de peroxyde d'hydrogène à 0,20 volume dont les quantités de 0 - 0,1..... 0,9 - 1 ml additionnées de 1 - 0,9..... 0,1 - 0 ml d'eau distillée et de 1 ml de solution tampon de pH 7,0 sont traitées comme indiqué ci-dessus et correspondent respectivement à 100 - 90..... 10 - 0 p. cent d'activité.

III. — *RESULTATS*

Les résultats concernant l'activité catalasique au niveau de la cornée chez les bovidés figurent au tableau IV. Nous constatons que cette activité relativement élevée, est plus importante chez l'animal adulte que chez le jeune Veau. Si nous calculons les résultats en mg de peroxyde d'hydrogène hydrolysés par gramme de tissu en 30 minutes, nous obtenons 20 à 23 mg. Si cette activité se révèle supérieure à celle des humeurs de l'œil (47), elle demeure inférieure cependant à celle de la rétine de bovidés (47) pour laquelle la valeur obtenue est de 132 mg.

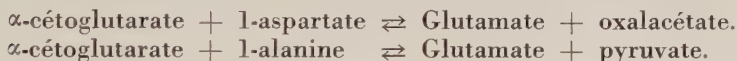
De plus, si nous nous rapportons à d'autres organes, nous voyons que cette activité est bien loin d'atteindre celle du foie de Cobaye ou de Bœuf par exemple (117), où respectivement 10.800 mg et 15.000 mg de peroxyde d'hydrogène sont hydrolysés en 15 minutes par gramme de tissu; et même celle de la glande prostatique chez le Rat (127) pour lequel 1 gramme de tissu hydrolyse 225 mg de peroxyde d'hydrogène en 30 minutes.

ACTIVITÉS AMINOTRANSFÉRASIQUES

I. — GENERALITES

La transamination est une réaction chimique qui représente l'étape fondamentale dans les processus, tant anaboliques que cataboliques, de nombreux acides aminés dont le rôle est essentiel dans la synthèse des protéines.

Les activités aspartate amino-transférase et alanine amino-transférase catalysent respectivement les réactions suivantes :



Nombreux sont les travaux qui ont permis de mettre en évidence la répartition très large de ces enzymes dans divers milieux biologiques (34, 35, 44, 48, 121, 281) et de souligner les variations de leur activité dans certains états physiopathologiques (34, 35, 147, 577).

II. — DOSAGE

a) PRINCIPE :

Les activités aspartate amino-transférase et alanine amino-transférase sont étudiées selon la méthode colorimétrique de REITMAN et FRANKEL (439). Les hydrazones de l'oxalacétate ou du pyruvate formés à partir d'une solution d' α -cétoglutarate à 2 mM p. litre, en présence de 0,2 ml de préparation enzymatique, après un temps d'incubation donné, en milieu tampon phosphate 0,1 M de pH 7,4, sont dosés par photolorimétrie à 505 m μ .

b) RÉACTIFS :

— *Solution tampon de phosphates 0,1 M de pH 7,4*, selon Soerensen : mélanger en proportions convenables PO₄H₂K à 13,7 g.p.l. (80 ml) et PO₄HNa₂ à 35,81 g.p.l. (420 ml). Conserver à + 4° C.

— *Solution de substrat n° 1* : (α -cétoglutarate 2 mM p. litre et dl-aspartate 200 mM p. litre). Triturer au mortier pendant 5 à

TABLEAU V

ACTIVITÉ ASPARTATE AMINOTRANSFÉRASIQUE

(Pourcentage de substrat métabolisé)

	Age moyen	Nombre de cornées par expérience	Nombre d'expériences	Temps d'incubation (en heures)			
				1/2		1	
				M	σ	M	σ
Préparations enzymatiques							
Activité spontanée				0,3	0,1	1,0	0,3
Surnageants d'homogénats dilués au 1/5 ^e	6 mois	10-12	9	12,2	1,5	20,5	3,2
	2 ans	10	10	13,1	1,0	21,3	1,8
	10 ans	10	9	13,8	1,2	22,1	2,8
Dilués au 1/10 ^e	6 mois	10-12	9	9,0	0,8	14,4	2,9
	2 ans	10	10	9,5	1,6	15,0	1,6
	10 ans	10	10	9,6	1,6	15,2	1,3
Dilués au 1/20 ^e	6 mois	10-12	9	6,3	1,2	9,2	1,7
	2 ans	10	10	6,5	1,5	10,6	1,9
	10 ans	10	10	6,9	1,4	10,7	1,6
Dilués au 1/50 ^e	6 mois	10-12	9	3,7	1,6	5,6	1,3
	2 ans	10	10	4,1	1,1	6,4	1,0
	10 ans	10	10	4,4	0,9	6,4	0,8

TABLEAU VI

ACTIVITÉ ALANINE AMINOTRANSFÉRASIQUE

(Pourcentage de substrat métabolisé)

Préparations enzymatiques	Age moyen	Nombre de cornées par expérience	Nombre d'expériences	Temps d'incubation (en heures)				
				1/2		1		
				M	σ	M	σ	σ
Activité spontanée				0,8	0,2	1,2		0,4
Surnageants d'homogénats dilués au 1/5*	6 mois	10-12	8	4,9	0,8	6,3		0,8
	2 ans	10	9	3,7	0,6	5,5		0,7
	10 ans	10	7	3,9	1,0	6,0		0,4
Dilués au 1/10*	6 mois	10-12	8	3,6	1,0	5,1		0,8
	2 ans	10	9	2,8	0,9	4,0		0,6
	10 ans	10	7	3,1	0,7	4,4		0,5
Dilués au 1/20*	6 mois	10-12	8	2,6	0,9	4,4		0,9
	2 ans	10	9	2,1	0,7	3,5		0,7
	10 ans	10	7	2,5	0,8	3,2		0,8
Dilués au 1/50*	6 mois	10-12	8	1,8	0,6	3,3		1,0
	2 ans	10	9	1,4	0,8	2,7		0,8
	10 ans	10	7	1,5	0,4	2,3		0,5

10 minutes, dans 15 ml environ de NaOH N : 2,66 g d'acide dl-aspartique et 0,0292 g d'acide α -cétoglutarique et ceci jusqu'à dissolution totale. Ajuster le pH à 7,4, transvaser dans un ballon jaugé de 100 ml et compléter à 100 ml avec la solution tampon indiquée ci-dessus. Répartir en flacons de polythène et conserver à $- 25^{\circ}$ C.

— *Solution de substrat n° 2* : (α -cétoglutarate 2 mM p. litre et dl-alanine 200 mM p. litre). Triturer au mortier pendant 5 à 10 minutes, dans 2 ml environ de NaOH N : 1,78 g de dl-alanine et 0,0292 g d'acide α -cétoglutarique, et ceci jusqu'à dissolution totale. Ajuster le pH à 7,4; transvaser dans un ballon jaugé de 100 ml et compléter à 100 ml avec la solution tampon indiquée ci-dessus. Répartir en flacons de polythène et conserver à $- 25^{\circ}$ C.

— *Solution de 2-4 dinitrophénylhydrazine* (2-4 D.N.P.H.) à 19,8 mg p. 100 ml d'HCl N. Conserver à l'abri de la lumière à $+ 4^{\circ}$ C.

— *Solution-étalon de pyruvate de sodium* à 22 mg p. 100 ml de solution tampon phosphate. A préparer extemporanément.

— *Solution de soude 0,4 N*. Conserver à $+ 4^{\circ}$ C.

c) MODE OPÉRATOIRE :

Préparer 2 témoins (non incubés) :

— *Témoin n° 1* (réglage du photocolorimètre) : 1 ml de solution tampon phosphate, 1 ml de solution de substrat et 0,2 ml d'eau distillée.

— *Témoin n° 2* (coloration donnée par la présence éventuelle d'oxalacétate ou de pyruvate) : 1 ml de solution tampon phosphate, 1 ml de solution de substrat et 0,2 ml de préparation enzymatique.

Faire incuber pendant 1/2 heure et 1 heure, dans un bain-marie équipé d'un thermostat Thermomix réglé à $+ 37^{\circ}$ C :

— *Chaque essai* (hydrolyse enzymatique) : 1 ml de solution tampon phosphate, 1 ml de solution de substrat et 0,2 ml de préparation enzymatique.

— *Témoin n° 3* (hydrolyse spontanée) : 1 ml de solution tampon phosphate, 1 ml de solution de substrat et 0,2 ml d'eau distillée.

Au terme de l'incubation, ajouter dans tous les tubes (essais et témoins), 1 ml de solution de 2-4 D.N.P.H. pour stopper la réaction. Agiter, laisser reposer 20 minutes. Ajouter 9 ml de NaOH 0,4 N. Agiter, laisser reposer 30 minutes et apprécier la coloration obtenue au photocolorimètre à 505 m μ .

L'étalonnage est effectué à l'aide de la solution de pyruvate de sodium, dont les volumes de 0 - 0,1..... 0,9 - 1 ml additionnés de

1 - 0,9..... 0,1 - 0 ml de substrat, de 1 ml de solution tampon phosphate et de 0,2 ml d'eau distillée, correspondent respectivement à 0 - 10..... 90 - 100 p. cent d'hydrolyse.

III. — *RESULTATS*

Les résultats concernant ces activités enzymatiques au niveau de la cornée chez les bovidés figurent aux tableaux V et VI. L'activité aspartate amino-transférase, peu importante, apparaît cependant 3 à 4 fois plus élevée que l'activité alanine amino-transférase qui se révèle très faible; il ne semble pas y avoir de variations sensibles avec l'âge des animaux.

Ces activités surpassent celles des humeurs de l'œil (48) mais restent très inférieures à celles constatées au niveau de la rétine de bovidés (44) pour laquelle l'activité aspartate amino-transférase atteint 32 à 35 p. cent pour une dilution au 1/100^e après 30 minutes d'incubation.

ACTIVITÉ LIPASIQUE-ALIESTÉRASIQUE

I. — GENERALITES

Les lipases sont des enzymes qui régissent l'hydrolyse ou la synthèse des corps gras en glycérol et acides gras. Notons que différents auteurs constatent que le taurocholate de sodium active la lipase vraie mais par contre, provoque l'inhibition de l'estérase banale (481).

Rencontrée presque exclusivement au niveau du pancréas, la lipase n'est pas décelée dans le sérum humain normal (481), cependant elle est présente dans le sérum de Chien. Dans le diagnostic des maladies du pancréas, la détermination de la lipase sérique a la même valeur que celle de l'amylase (107). Des variations pathologiques du taux sérique de cette enzyme ont été rapportées (292, 405), notamment au cours des affections pancréatiques chez le Chien : augmentation régulière dans les pancréatites aiguës expérimentales et diminution très marquée pendant 3 à 4 semaines après pancréatectomie totale.

II. — DOSAGE

a) PRINCIPE :

L'activité lipasique-aliestérasique est appréciée selon la technique de SELIGMAN et NACHLAS (481). Après hydrolyse enzymatique du β naphthyl-laurate, le β naphthol libéré est transformé en colorant azoïque par addition de sel de diazonium. Le pigment insoluble est extrait à l'acétate d'éthyle et la coloration obtenue est appréciée par photocolorimétrie. Dans ces conditions, estérases non spécifiques et lipases interfèrent dans la réaction; la différenciation s'effectue à l'aide du taurocholate de sodium qui, à doses appropriées, inhibe les estérases et active la lipase. Les valeurs obtenues en l'absence de taurocholate correspondent à l'activité estérasique non spécifique; en présence de lipase, les déviations optiques des tubes contenant du taurocholate sont plus élevées que dans le cas précédent, on admet que la différence entre les deux taux correspond à l'hydrolyse due à la lipase.

TABLEAU VII

ACTIVITÉ LIPASIQUE-ALISTÉRASIQUE

(Pourcentage de substrat métabolisé)

Préparations enzymatiques	Age moyen	Nombre de cornées par expérience	Nombre d'expériences	Temps d'incubation (en heures)				
				1		2		
				M	σ	M	σ	
Activité spontanée				0		0		
Surnageants d'homogénats dilués au 1/10 ^e	6 mois	10-14	10	32,4	4,4	47,7		3,6
	2 ans	10-12	10	33,3	3,8	48,7		6,6
	10 ans	10	7	37,0	2,8	50,5		3,7
Dilués au 1/20 ^e	6 mois	10-14	10	20,6	2,6	32,8		4,2
	2 ans	10-12	10	22,0	1,7	34,3		4,5
	10 ans	10	7	23,8	2,4	35,8		3,0
Dilués au 1/50 ^e	6 mois	10-14	10	7,8	1,8	13,7		2,5
	2 ans	10-12	10	7,4	1,3	13,6		3,3
	10 ans	10	7	9,0	1,6	14,5		1,6
Dilués au 1/100 ^e	6 mois	10-14	10	3,8	0,9	5,7		1,0
	2 ans	10-12	10	3,8	0,8	6,0		1,6
	10 ans	10	7	4,5	0,6	6,8		0,4

b) RÉACTIFS :

— *Solution tampon de barbital, selon Michaelis, de pH 7,4* : mélanger en proportions convenables: barbital sodique à 20,62 g.p.l. (58 ml) et acide chlorhydrique 0,1 N 42 ml. Conserver à + 4° C.

— *Solutions de substrat* :

1) *Solution-mère* acétonique de β naphtyl-laurate à 0,5 mg par ml. Conserver à + 4° C.

2) *Solution diluée* de substrat : prendre 5 ml de solution-mère de β naphtyl-laurate, ajouter 10 ml de solution tampon barbital et compléter à 50 ml avec de l'eau distillée. A préparer extemporanément.

— *Solution de taurocholate de sodium* (accelerator lipase) à 4,3 g p. 100. Conserver à + 4° C.

— *Solution aqueuse d'acide trichloracétique* à 40 p. 100. Conserver à + 4° C.

— *Solution extemporanée de diorthoanisidine tétra-azotée* dans l'eau glacée à la concentration de 4 mg par ml.

c) MODE OPÉRATOIRE :

Préparer :

— *Témoin n° 1*, non incubé (réglage du photocolorimètre) : 5 ml de solution diluée de substrat et 2 ml d'eau distillée.

Faire incuber pendant une heure et deux heures, dans un bain-marie équipé d'un thermostat Thermomix réglé à + 37° C :

— *Chaque essai* (activité enzymatique) : 5 ml de solution diluée de substrat, 1 ml de solution enzymatique et 1 ml d'eau distillée.

— *Témoin n° 2* (activité spontanée) : 5 ml de solution diluée de substrat et 2 ml d'eau distillée.

Au terme de l'incubation, plonger tous les tubes (essais et témoins) dans l'eau glacée et ajouter 1 ml de solution de diorthoanisidine. Agiter, attendre 2 minutes et mettre 1 ml d'acide trichloracétique à 40 p. 100. Extraire la coloration rouge obtenue par 10 ml d'acétate d'éthyle en agitant fortement et centrifuger. Prélever la couche organique et apprécier la coloration au photocolorimètre à 540 m μ .

Etalonnage.

Préparer une solution-mère acétonique de β naphtol à 22 mg p. 100 et une solution diluée en prélevant 5 ml de la solution précédente et en complétant à 50 ml avec de l'acétone.

L'étalonnage est effectué avec la *solution diluée* de β naphthol, dont les volumes de 0 - 0,5 - 1..... 4 - 4,5 - 5 ml, additionnés de 5 - 4,5 - 4..... 1 - 0,5 - 0 ml d'eau distillée et de 1 ml de solution tampon barbital de pH 7,4 sont traités comme indiqué ci-dessus et correspondent respectivement à 0 - 10..... 90 - 100 p. cent d'activité.

Précisons que dans nos conditions expérimentales, la différenciation à l'aide du taurocholate de sodium, nous a permis de déceler la présence d'une *estérase banale non spécifique*.

III. — *RESULTATS*

Les résultats concernant l'activité lipasique-aliestérasique au niveau de la cornée chez les bovidés figurent au tableau VII. Cette activité, sensiblement plus élevée chez l'animal adulte que chez le jeune Veau, se révèle non négligeable mais cependant très inférieure à celle d'un tissu comme le rein de Souris par exemple (6) où le taux décelé après 30 minutes d'incubation atteint 35 p. 100 pour une dilution au 1/200^e.

ACTIVITÉS CHOLINESTÉASIQUES

I. — GENERALITES

On désigne sous le nom de cholinestérases, les enzymes susceptibles d'hydrolyser les esters de la choline.

Il n'est pas possible de citer les innombrables travaux consacrés aux activités cholinestérasiques, notons cependant que l'existence de ces enzymes a été démontrée pour la première fois par LOEWI et NAVRATIL, en 1926, et c'est à STEDMAN et coll. en 1932, que nous devons la dénomination de cholinestérases (249).

On en distingue deux types. Le premier est constitué par la cholinestérase vraie qui n'agit que sur un nombre limité d'esters de la choline: acétylcholine, acétyl β métylcholine, acétyl β butyrylcholine; cette enzyme a été mise en évidence en particulier chez l'Homme, dans les hématies, le cerveau, les nerfs, les muscles. Le second type est représenté par la pseudo-cholinestérase qui est une estérase dont le champ d'action est assez étendu, elle peut hydrolyser l'acétylcholine, la benzoylcholine et d'autres esters de structure très différente. La pseudo-cholinestérase est l'enzyme du sérum humain; d'origine hépatique, on peut également la détecter dans le rein et le pancréas (112, 249).

II. — DOSAGE

a) PRINCIPE :

L'activité cholinestérasique est appréciée selon la technique de VINCENT et coll. (546) d'après HESTRIN. Le dosage est effectué en appréciant au photocolorimètre la coloration que donne l'acétylcholine restant en fin d'incubation, en présence du mélange hydroxylamine-perchlorure de fer.

La différenciation entre *cholinestérase vraie* et *pseudo-cholinestérase* s'effectue à l'aide de chlorhydrate de diéthazine qui inhibe totalement l'activité pseudo-cholinestérasique.

b) RÉACTIFS :

— *Solution tampon de barbital de pH 7,4.* Mélanger en pro-

TABLEAU VIII

ACTIVITÉ PSEUDO-CHOLINESTÉRASIQUE

(Pourcentage de substrat métabolisé)

Préparations enzymatiques	Age moyen	Nombre de cornées par expérience	Nombre d'expériences	Temps d'incubation (en heures)				
				1		2		
				M	σ	M	σ	σ
Activité spontanée				0		0		
Surnageants d'homogénats dilués au 1/5 ^e	6 mois	10-14	8	25,2	3,6	42,1		3,4
	2 ans	10-12	10	27,7	3,9	44,6		3,5
	10 ans	10	8	29,5	4,3	47,7		2,4
Dilués au 1/10 ^e	6 mois	10-14	8	14,3	3,1	23,3		3,4
	2 ans	10-12	10	15,2	3,2	24,3		3,0
	10 ans	10	8	16,5	2,6	29,5		4,0
Dilués au 1/20 ^e	6 mois	10-14	8	8,2	1,5	12,5		2,6
	2 ans	10-12	10	9,7	2,7	15,0		3,7
	10 ans	10	8	10,0	1,3	15,2		1,7
Dilués au 1/50 ^e	6 mois	10-14	8	5,6	1,8	8,1		1,7
	2 ans	10-12	10	5,1	1,6	8,8		2,2
	10 ans	10	8	6,0	1,4	8,8		1,1

portions convenables : barbital sodique 0,05 M à 10,31 g.p.l. (57 ml) et acide chlorhydrique 0,05 N (43 ml). Vérifier le pH et conserver à + 4° C.

— *Solution de substrat* : solution de chlorhydrate d'acétylcholine à 1 p. 1000 dans le tampon barbital de pH 7,4. A préparer extemporanément.

— *Solution aqueuse d'acide trichloracétique* à 10 p. 100. Conserver à + 4° C.

— *Solution d'hydroxylamine* : mélanger 1 volume de solution de chlorhydrate d'hydroxylamine à 13,9 g.p. 100 avec 2 volumes de solution de soude 3,5 N. A préparer extemporanément.

— *Solution d'acide chlorhydrique 4 N*. Conserver à + 4° C.

— *Solution de perchlorure de fer 0,37 N* en milieu chlorhydrique :

FeCl ₃ R.P. à 27 p. 100	23 ml.
HCl 0,1 N q.s.p.	100 ml.

Conserver à + 4° C.

— *Solution de chlorhydrate de diéthazine* à 0,4 p. 1000. A préparer extemporanément.

c) MODE OPÉRATOIRE :

Préparer :

— *Témoin n° 1*, non incubé (réglage du photocolorimètre) : 0,8 ml de solution tampon barbital de pH 7,4, 0,2 ml d'eau distillée et 1 ml de solution de substrat. Ce témoin correspond à 0 p. 100 d'hydrolyse.

(On peut également préparer un témoin correspondant à 100 p. 100 d'hydrolyse : 1,8 ml de solution tampon barbital et 0,2 ml d'eau distillée).

Faire incuber pendant 1 heure et 2 heures, dans un bain-marie équipé d'un thermostat Thermomix réglé à + 38° C :

— *Chaque essai* (activité enzymatique) : 0,8 ml de solution tampon barbital de pH 7,4, 0,2 ml de préparation enzymatique et 1 ml de solution de substrat.

— *Témoin n° 2* (activité spontanée) : 0,8 ml de solution tampon barbital, 0,2 ml d'eau distillée et 1 ml de solution de substrat.

Au terme de l'incubation, ajouter dans tous les tubes (essais et témoins) 1 ml de solution d'acide trichloracétique à 10 p. cent. Agiter, centrifuger. Prélever 1,5 ml de surnageant et ajouter 0,4 ml

de solution d'hydroxylamine; attendre 2 minutes et ajouter successivement : 0,3 ml d'acide chlorhydrique 4 N, 0,2 ml de solution de perchlorure de fer 0,37 N et 2 ml d'eau distillée. Agiter et apprécier la coloration obtenue au photocolorimètre à 520 m μ .

L'étalonnage est effectué à l'aide d'une solution de chlorhydrate d'acétylcholine à 1 p. 1000, dont les volumes de 0 - 0,1..... 0,9 - 1 ml additionnés de 0,2 ml d'eau distillée et de 1,8 - 1,7..... 0,9 - 0,8 ml de solution tampon barbital, sont traités comme indiqué ci-dessus et correspondent respectivement à 100 - 90..... 10 - 0 p. cent d'activité.

Précisons que dans *nos conditions expérimentales*, la différenciation à l'aide du chlorhydrate de diéthazine, nous a permis de déceler la présence d'une *pseudo-cholinestérase* et de constater l'absence de cholinestérase vraie.

III. — RESULTATS

Les résultats concernant l'activité pseudo-cholinestérasique au niveau de la cornée chez les bovidés figurent au tableau VIII; nous constatons que cette activité se révèle légèrement plus élevée chez l'animal adulte que chez le jeune Veau.

Sensiblement du même ordre de grandeur que l'activité relevée chez la Souris au niveau du rein (8) (surnageants d'homogénats au 1/10^e : 13 p. cent d'activité après 60 minutes d'incubation), elle demeure cependant bien moindre que celle constatée au niveau du foie (8) dans lequel le pourcentage de substrat métabolisé atteint 42 p. cent pour une dilution de 1/20^e, après seulement 15 minutes d'incubation.

ACTIVITÉ SALICYLESTÉRASIQUE (aspirine - estérasique)

I. — GENERALITES

Utilisé en thérapeutique depuis très longtemps, l'acide salicylique a donné naissance, notamment par estérification, à de nombreux dérivés parmi lesquels nous pouvons citer l'acide acétyl salicylique ou aspirine qui est le plus courant.

L'hydrolyse enzymatique de ces esters salicylés a été étudiée par différents chercheurs, parmi lesquels : AUGUSTINSSON (20), VINCENT et coll. (543, 544, 545), DASTUGUE, BASTIDE et coll. (33, 41, 42, 49), dont les nombreux travaux ont été effectués sur les humeurs, tissus et organes humains ou animaux.

II. — DOSAGE

a) PRINCIPE :

L'activité aspirine-estérasique est appréciée selon la technique décrite par DASTUGUE et BASTIDE (33, 41, 42) et qui s'inspire de celle de VINCENT et coll. (545). Sous l'influence de l'aspirine estérase, l'acide acétyl salicylique est hydrolysé en acide salicylique et en acide acétique. La fonction phénol ainsi libérée donne, en présence de perchlorure de fer, une coloration violette dont l'intensité est appréciée au photocolorimètre à 540 m μ .

b) RÉACTIFS :

— *Solution tampon de phosphates* de pH 7,3 : mélanger en proportions convenables $\text{PO}_4\text{H}_2\text{K}$ à 9,072 g.p.l. (7,5 ml) et PO_4HNa_2 , 12 H_2O à 23,878 g.p.l. (42,5 ml). Compléter à 100 ml avec de l'eau distillée. Conserver à + 4° C.

— *Solution de substrat* : solution d'acide acétyl salicylique M/200 à 0,09 g pour 100 ml de solution tampon phosphate, portée préalablement à + 25-30° C. Agiter pour dissoudre et filtrer. A préparer extemporanément.

— *Solution aqueuse d'acide trichloracétique* à 10 p. 100. Conserver à + 4° C.

TABLEAU IX

ACTIVITÉ ASPIRINE - ESTÉRASIQUE

(Pourcentage de substrat métabolisé)

Préparations enzymatiques	Age moyen	Nombre de cornées par expérience	Nombre d'expériences	Temps d'incubation (en heures)				
				2		3		
				M	σ	M	σ	σ
Activité spontanée				7,0	0,7	10,5		0,9
Surnageants d'homogénats dilués au 1/5*	6 mois	10-14	8	23,7	2,3	30,2		1,7
	2 ans	10-12	9	24,0	1,2	31,2		1,7
	10 ans	10	6	24,8	1,3	32,6		2,1
Dilués au 1/10*	6 mois	10-14	8	18,5	1,4	23,7		3,2
	2 ans	10-12	9	18,7	1,1	24,0		3,2
	10 ans	10	6	20,0	1,7	26,8		1,1
Dilués au 1/20*	6 mois	10-14	8	15,3	1,5	19,0		1,6
	2 ans	10-12	9	14,3	1,2	19,6		1,8
	10 ans	10	6	15,2	1,2	21,6		1,6
Dilués au 1/50*	6 mois	10-14	8	10,8	0,6	14,0		0,7
	2 ans	10-12	9	10,9	1,0	14,4		1,2
	10 ans	10	6	11,3	0,9	15,6		1,2

— *Solution officinale de perchlorure de fer* diluée au 1/5°.

— *Solution de salicylate de sodium* 0,00025 M à 0,04 g pour 100 ml de solution tampon phosphate.

c) **MODE OPÉRATOIRE :**

Préparer 2 témoins (non incubés) :

— *Témoin n° 1* (réglage du photocolorimètre) : 1 ml de solution tamponnée de substrat et 1 ml d'eau distillée.

— *Témoin n° 2* (présence éventuelle de substances à fonction phénol libre dans la préparation) : 1 ml de solution tampon phosphate et 1 ml de préparation enzymatique.

Faire incuber pendant deux heures et trois heures, dans un bain-marie équipé d'un thermostat Thermomix réglé à $+ 37^{\circ} \text{C}$:

— *Chaque essai* (activité enzymatique) : 1 ml de solution tamponnée de substrat et 1 ml de préparation enzymatique.

— *Témoin n° 3* (activité spontanée) : 1 ml de solution tamponnée de substrat et 1 ml d'eau distillée.

Au terme de l'incubation, ajouter dans tous les tubes (essais et témoins) 2 ml d'acide trichloracétique à 10 p. 100 pour stopper la réaction. Agiter. Centrifuger. Prélever 2 ml de liquide surnageant et ajouter successivement 8 ml d'eau distillée et 0,5 ml de solution officinale de perchlorure de fer diluée au 1/5°. La coloration violette obtenue est appréciée au photocolorimètre à 540 m μ .

L'étalonnage est pratiqué avec une solution tamponnée de salicylate de sodium 0,00025 M, dont les volumes de 0 - 0,1..... 0,9 - 1 ml additionnés de 1 - 0,9..... 0,1 - 0 ml de solution tampon phosphate et de 1 ml d'acide trichloracétique à 10 p. cent, sont traités comme indiqué ci-dessus et correspondent respectivement à 0 - 10..... 90 - 100 p. cent d'hydrolyse.

III. — *RESULTATS*

Les résultats concernant l'activité aspirine-estérasique au niveau de la cornée chez les bovidés figurent au tableau IX. Cette activité se révèle non négligeable compte tenu de l'hydrolyse spontanée du substrat; il ne semble pas y avoir de variations importantes avec l'âge des animaux.

Si nous calculons les résultats en mg d'aspirine hydrolysés par gramme de tissu et par heure, nous obtenons 0,4 mg. Cette activité se révèle inférieure à celle de la rétine de bovidés (49) pour laquelle la valeur obtenue dans les mêmes conditions est de 1,5 mg. De plus,

si nous comparons cette activité à celle décelée dans d'autres tissus, nous voyons qu'elle est loin d'atteindre celle du foie de Cobaye par exemple (545) dont 100 mg hydrolysent 10 mg d'aspirine en 1 heure, ou même celle du rein de Souris dans lequel 1 g de tissu hydrolyse environ 6,5 mg d'aspirine en 1 heure (36).

ACTIVITÉS PHOSPHATASIQUES

I. — GENERALITES

Les phosphatases sont des phosphomonoestérases, enzymes qui catalysent l'hydrolyse des monoesters de l'acide orthophosphorique en acide phosphorique et en alcool ou phénol.

La répartition de ces enzymes est extrêmement vaste; on en distingue plusieurs types : la phosphatase de type I ou phosphatase alcaline de pH optimum voisin de 8,0 - 9,0 et les phosphatases acides dont la plus connue est la phosphatase de type II, caractérisée par un pH optimum de 5,0 - 5,6.

La phosphatase alcaline est de loin la plus répandue dans les tissus animaux (112, 249); abondante dans les os en voie de croissance, la muqueuse intestinale, le cortex rénal, elle est également décelable en proportions importantes dans le foie, le placenta, la glande mammaire. De plus, les hématies, les plaquettes sanguines, le plasma et le cerveau en renferment mais en moindres quantités.

De nombreux caractères permettent de différencier de cette enzyme, la *phosphatase acide* de type II, dont la répartition est plus étendue mais aussi plus irrégulière (112, 249). Chez les Mammifères, elle a été décelée à des taux moindres dans le foie, les reins, les muscles, le cerveau, les surrénales, le pancréas; de même, les os et la muqueuse intestinale, si riches en phosphatase alcaline, sont pratiquement dépourvus de phosphatase acide alors que certains organes, telle la prostate chez l'Homme, en sont particulièrement riches. Irrégulièrement distribuée chez les animaux, cette enzyme est surtout caractéristique des végétaux chlorophylliens. De plus, une phosphatase qui semble pouvoir se relier au type II a été décelée dans divers champignons et bactéries.

La détermination de la phosphatasémie est devenue un examen classique de laboratoire et les variations pathologiques observées pour la phosphatase alcaline sont particulièrement nettes dans les affections osseuses et hépatiques; de plus, les principales élévations du taux de phosphatase acide s'observent au cours des cancers de la prostate (112, 249).

TABLEAU X

ACTIVITÉ PHOSPHATASIQUE ALCALINE

(Pourcentage de substrat métabolisé)

	Age moyen	Nombre de cornées par expérience	Nombre d'expériences	Temps d'incubation (en heures)				
				1/2		1		
				M	σ	M	σ	
Préparations enzymatiques				0		0		
Activité spontanée								
Surnageants d'homogénats dilués au 1/25*	6 mois	10-14	9	18,4	2,9	31,6	5,4	
	2 ans	10-12	6	20,0	3,0	32,5	4,2	
	10 ans	10	8	21,2	3,9	35,0	5,2	
Dilués au 1/50*	6 mois	10-14	9	7,6	0,9	12,0	1,4	
	2 ans	10-12	6	8,6	0,8	15,0	2,3	
	10 ans	10	8	9,5	1,0	14,5	1,8	
Dilués au 1/100*	6 mois	10-14	9	4,0	0,5	6,0	0,5	
	2 ans	10-12	6	5,0	0,2	8,5	0,9	
	10 ans	10	8	5,5	1,3	8,2	1,0	
Dilués au 1/200*	6 mois	10-14	8	2,0	0,2	3,3	0,6	
	2 ans	10-12	6	2,5	0,9	4,0	0,8	
	10 ans	10	8	2,5	0,2	4,5	0,7	

TABLEAU XI

ACTIVITÉ PHOSPHATASIQUE ACIDE

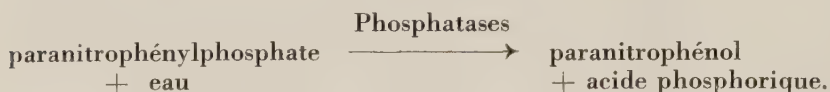
(Pourcentage de substrat métabolisé)

Préparations enzymatiques	Age moyen	Nombre de corréés par expérience	Nombre d'expériences	Temps d'incubation (en heures)				
				1/2		1		
				M	σ	M	σ	
Activité spontanée				0		0		
Surnageants d'homogénats dilués au 1/25 ^e	6 mois 2 ans 10 ans	10-14 10-12 10	9	6,2	1,1	10,3		2,5
			6	6,1	1,0	10,3		1,6
			8	7,7	1,6	12,5		2,5
Dilués au 1/50 ^e	6 mois 2 ans 10 ans	10-14 10-12 10	6	3,4	0,2	6,2		0,9
			8	3,8	0,9	6,0		1,1
			9	3,8	0,8	5,9		1,0
Dilués au 1/100 ^e	6 mois 2 ans 10 ans	10-14 10-12 10	9	2,2	0,6	3,8		0,8
			6	2,8	0,7	4,4		0,6
			8	2,5	0,5	4,0		0,2
Dilués au 1/200 ^e	6 mois 2 ans 10 ans	10-14 10-12 10	8	ε	—	2,3		0,5
			6	ε	—	2,1		0,4
			8	ε	—	2,2		0,5

II. — DOSAGE

a) PRINCIPE :

Les activités phosphatasiques sont appréciées selon la technique de BESSEY, LOWRY et BROCK (72). Le paranitrophénylphosphate incolore, libère à + 37° C par hydrolyse du groupement phosphate, du paranitrophénol coloré en jaune en milieu alcalin.



Selon le pH du milieu d'incubation, on apprécie l'activité phosphatasique alcaline ou acide.

b) RÉACTIFS :

— *Solution tampon glycolle-soude 0,4 M de pH 10,5.*

Préparer 2 solutions, à conserver à + 4° C.

<i>Solution A :</i>	Glycolle	7,505	g.
	Chlorure de sodium	5,85	g.
	Alcool à 80°	20	ml.
	Eau distillée q.s.p.	1 000	ml.

<i>Solution B :</i>	Soude 0,1 N	1 000	ml.
---------------------	-------------	-------	-----

Mélanger extemporanément 55 ml solution A et 45 ml solution B.

— *Solution de tampon citrique de pH 4,8.*

	Acide citrique	21,008	g.
	Soude N	200	ml.
	Eau distillée q.s.p.	1 000	ml.

Conserver à + 4° C.

— *Solution de substrat :* solution de paranitrophényl phosphate de sodium M/1000 à 26,3 mg pour 100 ml d'eau distillée. A préparer extemporanément.

— *Solution de paranitrophénol M/2000* à 13,9 mg pour 200 ml d'eau distillée. A préparer extemporanément.

— *Solutions de soude 0,02 N et 0,2 N.* Conserver à + 4° C.

c) MODE OPÉRATOIRE :

Préparer :

— *Témoin n° 1*, non incubé (réglage du spectrophotomètre) : 1,1 ml d'eau distillée et 10 ml de solution de soude 0,02 N.

Faire incuber pendant 1/2 heure et 1 heure, dans un bain-marie équipé d'un thermostat Thermomix réglé à + 37° C :

— *Chaque essai* — a) *activité phosphatasique alcaline* : 1 ml du mélange à parties égales et extemporané de solution de tampon glycolle-soude et de solution de substrat M/1000 et 0,1 ml de préparation enzymatique.

b) *Activité phosphatasique acide* : 1 ml du mélange à parties égales et extemporané de solution de tampon citrique et de solution de substrat M/1000 et 0,1 ml de préparation enzymatique.

— *Témoin n° 2* (activité spontanée) : 1 ml du mélange à parties égales et extemporané de solution de tampon glycolle-soude (ou tampon citrique) et de solution de substrat M/1000 et 0,1 ml d'eau distillée.

Au terme de l'incubation, ajouter dans tous les tubes (essais et témoin n° 2) 10 ml de solution de soude 0,02 N (activité phosphatasique alcaline) ou 10 ml de solution de soude 0,2 N (activité phosphatasique acide); la réaction est ainsi stoppée et la coloration développée. La lecture des densités optiques obtenues au spectrophotomètre de Jobin et Yvon est effectuée à 410 m μ .

L'étalonnage est effectué à l'aide d'une solution de paranitrophénol M/2000, dont les volumes de 0 - 0,1..... 0,9 - 1 ml additionnés de 1,1 - 1..... 0,2 - 0,1 ml d'eau distillée et de 10 ml de solution de soude 0,02 N, correspondent respectivement à 0 - 10... 90 - 100 p. cent d'activité.

III. — *RESULTATS*

Les résultats concernant les activités phosphatasiques au niveau de la cornée chez les bovidés, figurent aux tableaux X et XI. L'activité phosphatasique alcaline importante, est environ 3 fois supérieure à l'activité phosphatasique acide qui se révèle faible. Ces activités apparaissent sensiblement plus élevées chez l'animal adulte que chez le jeune Veau.

Les pourcentages d'activité phosphatasique alcaline indiqués ci-dessus sont légèrement supérieurs, ce qui est particulièrement remarquable, à ceux obtenus dans les mêmes conditions au niveau de la rétine de bovidés (50) (surnageants d'homogénats au 1/25° : 29 à 31 p. cent d'activité après une heure d'incubation). Dans ce tissu, par contre, l'activité phosphatasique acide (surnageants d'homogénats au 1/25° : 24 à 27 p. cent d'activité après 1 heure d'incubation), est environ 2 fois supérieure à celle constatée par nous-mêmes au niveau de la cornée.

De plus, si nous comparons les taux indiqués ci-dessus, à ceux obtenus au niveau d'autres tissus, nous voyons que l'activité phosphatasique alcaline de la cornée reste, malgré tout, inférieure à

celle décelée par exemple dans le foie ou le rein de Souris (7) (foie au $1/20^e$: 31 p. cent d'activité après 30 minutes d'incubation; rein au $1/400^e$: 61 p. cent d'activité après une heure d'incubation), et inférieure encore à l'activité relevée au niveau de l'épiphyse chez le Mouton (126) (homogénats au $1/50^e$: 38 p. cent d'activité après une heure d'incubation). Dans le cas de la phosphatase acide, les différences sont encore plus accentuées, car cette activité enzymatique, rappelons-le, n'est pas très intense au niveau de la cornée.

ACTIVITÉ 5 - NUCLÉOTIDASIQUE SPÉCIFIQUE

I. — *GENERALITES*

La 5-nucléotidase appartient au groupe des phosphomonoestérases spécifiques. Cette enzyme a été mise en évidence dans divers milieux biologiques et différents travaux permettent de déceler sa présence aussi bien dans le venin de serpent (249) que dans les tissus oculaires (50), les plaquettes sanguines chez l'Homme (464), les microsomes, les mitochondries et la fraction cytoplasmique des cellules placentaires (434).

II. — *DOSAGE*

a) PRINCIPE :

L'activité 5-nucléotidasique spécifique est appréciée selon la technique de CAMPBELL (90). Le dosage est effectué en estimant par méthode photolorimétrique le phosphore inorganique libéré d'une part, en l'absence d'ions Ni^{++} par la 5-nucléotidase et la phosphatase alcaline et d'autre part, en présence d'ions Ni^{++} uniquement par la phosphatase alcaline. La différence entre les deux résultats obtenus donne le chiffre correspondant à l'activité 5-nucléotidasique seule. Le phosphore libéré est dosé par la méthode de FISKE et SUBBAROW (162).

En résumé, l'interférence avec la phosphatase alcaline est levée par une double détermination, dont l'une en présence d'ions Ni^{++} élimine la 5-nucléotidase.

b) RÉACTIFS :

— *Solution tampon de barbital* 0,04 M à la concentration de 8,248 g.p.l. Ajuster le pH à 7,5 à l'aide d'acide chlorhydrique N/10. Conserver à $+ 4^{\circ} \text{C}$.

— *Solution d'adénosine-mono-phosphate (A.M.P.)* 0,01 M à 4,11 mg pour 1 ml d'eau distillée. Répartir en flacons de polythène et conserver à $- 25^{\circ} \text{C}$.

— *Solution de sulfate de manganèse* 0,02 M : faire dissoudre 3,3802 g dans un litre d'eau distillée. Conserver à $+ 4^{\circ} \text{C}$.

— *Solution de chlorure de nickel* 0,01 M : faire dissoudre 23,77 g dans 1 litre d'eau distillée. Conserver à $+ 4^{\circ} \text{C}$.

TABLEAU XII

ACTIVITÉ 5-NUCLÉOTIDASIQUE SPÉCIFIQUE

(Pourcentage de substrat métabolisé)

Préparations enzymatiques	Age moyen	Nombre de cornées par expérience	Nombre d'expériences	Activité totale		Phosphatase alcaline		5-nucléotidase					
				Temps d'incubation (en heures)		Temps d'incubation (en heures)		1		2		Temps d'incubation (en heures)	
				1	2	1	2	M	σ	M	σ	M	σ
				M	M	M	M	0		0			
Activité spontanée				0	0	0	0						
Surnageants d'homogénats dilués au 1/5 ^e	6 mois	10-14	8	65,6	89,0	38,8	45,2	26,8	4,7	43,8	7,2		
	2 ans	10-12	10	59,4	82,4	37,4	47,0	22,0	4,2	35,4	3,3		
	10 ans	10	8	58,1	87,3	38,8	54,3	19,3	1,7	33,0	3,3		
Dilués au 1/10 ^e	6 mois	10-14	8	33,7	50,2	20,9	23,7	12,6	2,6	26,5	4,4		
	2 ans	10-12	10	31,9	45,6	20,7	24,9	11,2	2,3	20,7	2,9		
	10 ans	10	8	30,5	47,6	19,0	28,6	11,5	1,3	19,0	2,8		
Dilués au 1/20 ^e	6 mois	10-14	8	20,0	28,0	12,0	13,0	8,0	1,0	15,0	2,2		
	2 ans	10-12	10	16,8	24,4	10,6	13,4	6,2	1,6	11,0	1,4		
	10 ans	10	8	16,8	25,6	10,8	15,4	6,0	0,8	10,2	1,7		
Dilués au 1/50 ^e	6 mois	10-14	8	9,6	13,3	5,6	6,3	4,0	1,3	7,0	1,3		
	2 ans	10-12	10	7,5	11,8	3,9	5,5	3,6	1,0	6,3	0,8		
	10 ans	10	8	7,0	12,1	3,4	5,8	3,6	0,5	6,3	1,3		

— *Solution aqueuse d'acide trichloracétique à 10 p. 100.* Conserver à + 4° C.

— *Solution de molybdate d'ammonium :*

Molybdate d'ammonium	5 g.
Acide sulfurique conc.	14,7 g.
Eau distillée q.s.p.	100 ml.

Conserver à + 4° C.

— *Réactif de Fiske et Subbarow :*

Acide 1-amino-2-naphtol-4-sulfonique	0,2 g.
Métabisulfite de sodium	12 g.
Sulfite anhydre de sodium	1,2 g.
Eau distillée q.s.p.	100 ml.

Homogénéiser au Virtis 45. Conserver en verre coloré à + 4° C.

c) MODE OPÉRATOIRE :

Préparer 2 témoins (non incubés) :

— *Témoin n° 1* (réglage du photocolorimètre) : 1,3 ml de solution tampon barbital de pH 7,5, 0,1 ml de solution de sulfate de manganèse, 0,2 ml de solution de chlorure de nickel, 0,2 ml d'eau distillée et 0,2 ml de solution d'A.M.P.

— *Témoin n° 2* (présence éventuelle de phosphore dans la préparation) : 1,3 ml de solution tampon barbital de pH 7,5, 0,1 ml de solution de sulfate de manganèse, 0,2 ml de solution de chlorure de nickel, 0,2 ml de préparation enzymatique et 0,2 ml d'eau distillée.

Faire incuber pendant 1 heure et 2 heures, dans un bain-marie équipé d'un thermostat Thermomix réglé à + 37° C :

— *Chaque essai* (activités enzymatiques) :

1) 1,5 ml de solution tampon barbital de pH 7,5, 0,1 ml de solution de sulfate de manganèse, 0,2 ml de préparation enzymatique et 0,2 ml de solution d'A.M.P.

2) 1,3 ml de solution tampon barbital de pH 7,5, 0,1 ml de solution de sulfate de manganèse, 0,2 ml de solution de chlorure de nickel, 0,2 ml de préparation enzymatique et 0,2 ml de solution d'A.M.P.

— *Témoin n° 3* (activité spontanée) : 1,3 ml de solution tampon barbital, 0,1 ml de solution de sulfate de manganèse, 0,2 ml de solution de chlorure de nickel, 0,2 ml d'eau distillée et 0,2 ml de solution d'A.M.P.

Au terme de l'incubation, ajouter dans tous les tubes (essais et témoins) 2 ml de solution d'acide trichloracétique à 10 p. 100. Agiter, centrifuger. Prélever 2 ml de surnageant et ajouter successivement : 1 ml de solution de molybdate acide d'ammonium,

4 ml d'eau distillée, 0,5 ml de réactif de Fiske et compléter à 10 ml avec de l'eau distillée. Agiter, laisser reposer 5 minutes et apprécier la coloration obtenue au photocolorimètre à 650 m μ .

L'étalonnage est effectué à l'aide d'une solution de PO₄H₂K 0,5 mM (soit 6,8045 mg pour 100 ml d'eau distillée) dont les volumes de 0 - 0,2..... 1,8 - 2 ml additionnés de 2 - 1,8..... 0,2 - 0 ml d'eau distillée sont colorés par la méthode de Fiske et Subbarow indiquée ci-dessus et correspondent respectivement à 0 - 10..... 90 - 100 p. cent d'activité.

III. — *RESULTATS*

Les résultats concernant l'activité de la 5-nucléotidase spécifique au niveau de la cornée chez les bovidés, figurent au tableau XII; l'activité constatée chez le jeune Veau se révèle légèrement supérieure à celle qui est décelée chez l'animal adulte.

Une semblable diminution du taux d'activité de l'enzyme, en fonction de l'âge, se retrouve au niveau du corps vitré et même de la rétine (50) pour laquelle l'activité correspondant à une dilution au 1/50^e, décroît de 44 à 35 p. cent, après une incubation de 60 minutes.

Comparativement à d'autres tissus, l'activité non négligeable relevée au niveau de la cornée, se révèle inférieure à celle du foie et du rein de Souris par exemple (9) dans lesquels le pourcentage de substrat métabolisé atteint 35 et 40 p. cent, respectivement pour des dilutions au 1/25^e et au 1/100^e, après 60 minutes d'incubation.

ACTIVITÉ GLUCOSE - 6 - PHOSPHATASIQUE

I. — GENERALITES

La glucose-6-phosphatase appartient au groupe des phospho-monoestérases spécifiques. Cette enzyme, mise en évidence pour la première fois en 1945, a fait l'objet par la suite, de nombreuses recherches. Présente dans le foie et le rein, elle est liée intégralement aux microsomes; elle peut hydrolyser de nombreux substrats et préférentiellement le glucose-6-phosphate (249).

La glucose-6-phosphatase « intervient au cours de la dernière étape de la glycogénolyse hépatique; elle termine ainsi le cycle des réactions assurant la recharge glycémique aux dépens du glycogène » (249).

Dans la polycorie glycogénique (maladie de Von Gierke), on constate une très forte diminution de l'activité de la glucose-6-phosphatase hépatique. Cette maladie métabolique semble liée « à une déficience génétique de la biosynthèse de la glucose-6-phosphatase » (249).

II. — DOSAGE

a) PRINCIPE :

L'activité de la glucose-6-phosphatase est appréciée selon la technique de SWANSON (512) légèrement modifiée. Le phosphate libéré du glucose-6-phosphate (G-6-P) par hydrolyse enzymatique, est dosé photolorimétriquement à 650 m μ selon la technique de FISKE et SUBBAROW (162).

b) RÉACTIFS :

— *Solution tampon de pH 6,5* : dissoudre 116 mg d'acide maléique dans 5 ml d'eau distillée. Ajuster le pH à l'aide de la solution de soude N et compléter le volume à 10 ml avec de l'eau distillée. Conserver à + 4° C.

— *Solution de substrat 0,02 M* : triturer dans un tube à centrifuger 260 mg de G-6-P Ba, 7 H₂O avec 2 ml d'eau distillée et HCl N q.s.p. dissoudre. Ajouter environ 4,6 ml de solution aqueuse de SO₄Na₂ anhydre à 5 p. 100 jusqu'à précipitation totale du baryum.

TABLEAU XIII

ACTIVITÉ GLUCOSE-6-PHOSPHATASIQUE

(Pourcentage de substrat métabolisé)

Préparations enzymatiques	Age moyen	Nombre de cornées par expérience	Nombre d'expériences	Temps d'incubation (en heures)				
				12		24		
				M	σ	M	σ	
Activité spontanée				0		0		
Surnageants d'homogénats dilués au 1/5 ^e	6 mois	10-14	8	7,7	1,0	11,8	1,9	
	2 ans	10-12	9	8,0	1,3	12,3	1,5	
	10 ans	10	8	9,5	0,9	14,6	1,6	
Dilués au 1/10 ^e	6 mois	10-14	8	5,3	1,2	7,0	1,2	
	2 ans	10-12	9	5,6	1,1	7,2	0,9	
	10 ans	10	8	6,0	1,1	8,0	1,1	
Dilués au 1/20 ^e	6 mois	10-14	8	3,4	1,2	4,1	1,1	
	2 ans	10-12	9	3,8	1,3	4,5	1,1	
	10 ans	10	8	4,3	1,2	5,3	1,0	
Dilués au 1/50 ^e	6 mois	10-14	8	ε	—	2,6	1,1	
	2 ans	10-12	9	ε	—	2,5	0,9	
	10 ans	10	8	ε	—	2,7	0,9	

Agiter, centrifuger et vérifier que le surnageant ne précipite plus par addition d'une goutte de solution de SO_4Na_2 . Prélever le surnageant, ajuster à pH 6,5 à l'aide de la solution de soude N et compléter à 25 ml avec de l'eau distillée. Agiter, répartir en flacons de polythène et conserver à $- 25^\circ \text{C}$.

— *Solution aqueuse d'acide trichloracétique à 10 p. 100.* Conserver à $+ 4^\circ \text{C}$.

— *Solution de soude N.* Conserver à $+ 4^\circ \text{C}$.

— *Solution de molybdate d'ammonium :*

Molybdate d'ammonium	5 g.
Acide sulfurique conc.	14,7 g.
Eau distillée q.s.p.	100 ml.

Conserver à $+ 4^\circ \text{C}$.

— *Réactif de Fiske et Subbarow :*

Acide-1-amino-2-naphtol-4-sulfonique	0,2 g.
Métabisulfite de sodium	12 g.
Sulfite anhydre de sodium	1,2 g.
Eau distillée q.s.p.	100 ml.

Homogénéiser au Virtis 45. Conserver en verre coloré à $+ 4^\circ \text{C}$.

c) MODE OPÉRATOIRE :

Préparer 2 témoins (non incubés) :

— *Témoin n° 1* (réglage du photocolorimètre) : 0,5 ml de solution tampon de pH 6,5 et 0,5 ml de solution de substrat G-6-P.

— *Témoin n° 2* (présence éventuelle de phosphore dans la préparation) : 0,4 ml de solution tampon de pH 6,5, 0,1 ml de préparation enzymatique et 0,5 ml d'eau distillée.

Faire incuber pendant 12 heures et 24 heures, dans un bain-marie équipé d'un thermostat Thermomix réglé à $+ 37^\circ \text{C}$:

— *Chaque essai* (activité enzymatique) : 0,4 ml de solution tampon de pH 6,5, 0,1 ml de préparation enzymatique et 0,5 ml de solution de substrat G-6-P.

— *Témoin n° 3* (activité spontanée) : 0,4 ml de solution tampon de pH 6,5, 0,1 ml d'eau distillée et 0,5 ml de solution de substrat G-6-P.

Au terme de l'incubation, ajouter dans tous les tubes (essais et témoins) 1 ml de solution d'acide trichloracétique à 10 p. 100. Agiter, porter 5 minutes au bain de glace et centrifuger. Prélever 0,31 ml de surnageant, ajouter q.s.p. 1 ml d'eau distillée, puis successivement 1 ml de solution de molybdate acide d'ammonium, 3 ml d'eau distillée, 0,5 ml de réactif de Fiske et compléter à 10 ml avec de l'eau distillée. Agiter, laisser reposer 5 minutes et appré-

cier la coloration obtenue au photocolorimètre à 650 m μ .

L'étalonnage est pratiqué à l'aide d'une solution aqueuse de $\text{PO}_4\text{H}_2\text{K}$ à 218 mg par litre (50 μg de P par ml) dont les volumes de 0 - 0,1..... 0,9 - 1 ml additionnés de 1 - 0,9..... 0,1 - 0 ml d'eau distillée, sont colorés par la méthode de Fiske et Subbarow indiquée ci-dessus et correspondent respectivement à 0 - 10..... 90 - 100 p. cent d'activité.

III. — *RESULTATS*

Les résultats concernant l'activité glucose-6-phosphatasique au niveau de la cornée chez les bovidés figurent au tableau XIII; cette activité se révèle faible et augmente très légèrement avec l'âge des animaux. Si elle surpasse l'activité relevée au niveau des humeurs aqueuse et vitrée (46), elle demeure cependant inférieure à celle que nous pouvons noter dans les mêmes conditions expérimentales au niveau de la rétine de bovidés (46) (surnageants d'homogénats au 1/5^e : 26 à 32 p. cent d'activité après 16 heures d'incubation) et très inférieure encore à l'activité relevée au niveau d'autres tissus, tel le rein chez le Rat ou la Souris (37) où elle atteint environ 20 à 23 p. cent, pour une dilution de 1/20^e après 1 heure d'incubation seulement.

ACTIVITÉ AMYLASIQUE (pouvoir dextrinant)

I. — GENERALITES

On désigne sous le nom d'amylases, les enzymes capables de provoquer par voie hydrolytique la dégradation des constituants de l'amidon, du glycogène et de produits intermédiaires de la scission, les dextrines.

Il existe plusieurs types d'amylases dont la répartition est très large (112, 249); on en rencontre chez les micro-organismes, les végétaux et les animaux. Chez l'Homme, le foie et le muscle en renferment de faibles quantités; de plus, les amylases de la salive et du suc pancréatique exercent un rôle essentiel dans la digestion.

De fortes élévations de l'amylasémie s'observent dans les pancréatites aiguës et certains cas de méningites alors qu'il y a diminution dans les affections hépatiques. Le taux de l'amylase urinaire suit les variations de l'amylase sanguine et la détermination de cette enzyme est une épreuve de laboratoire courante dans l'examen des enzymes qui participent au métabolisme glucidique (112).

II. — DOSAGE

a) PRINCIPE :

L'activité amylasique est appréciée selon la technique de WOHLGEMUTH (569). L'amidon soluble restant après incubation enzymatique est coloré par l'iode et dosé par photolorimétrie à 600 m μ . Les dextrines ne donnent pas de coloration bleue avec l'iode.

amidon soluble	—————→	dextrines	—————→	maltose
		(pouvoir dextrinant)		(pouvoir saccharifiant)

b) RÉACTIFS :

— *Solution tampon de phosphates 0,1 M de pH 6,0* : mélanger en proportions convenables PO₄H₂K à 13,6 g.p.l. (89 ml) et PO₄HNa₂, 12 H₂O à 35,8 g.p.l. (11 ml). Conserver à + 4° C.

— *Solution d'amidon à 1 p. 100* : délayer 1 g d'amidon soluble Merck n° 1257 dans 3 ml environ d'eau distillée froide. Ajouter

TABLEAU XIV

ACTIVITÉ AMYLASIQUE (POUVOIR DEXTRINANT)

(Pourcentage de substrat métabolisé.)

	Age moyen	Nombre de cornées par expérience	Nombre d'expériences	Temps d'incubation (en minutes)				
				15		30		
				M	σ	M	σ	
Préparations enzymatiques				0		0		
Activité spontanée								
Surnageants d'homogénats dilués au 1/25 ^e	6 mois	10-14	10	27,0	4,2	42,0	8,9	
	2 ans	10-12	7	32,0	8,8	47,0	10,3	
	10 ans	10	8	30,0	4,1	45,0	6,1	
Dilués au 1/50 ^e	6 mois	10-14	10	17,6	2,0	30,0	4,5	
	2 ans	10-12	7	23,0	6,3	30,5	7,3	
	10 ans	10	8	22,0	2,8	33,0	3,4	
Dilués au 1/100 ^e	6 mois	10-14	10	10,8	1,1	20,4	3,7	
	2 ans	10-12	7	12,4	4,4	24,0	5,2	
	10 ans	10	8	12,0	2,4	23,0	4,5	
Dilués au 1/200 ^e	6 mois	10-14	10	5,3	1,7	10,4	2,0	
	2 ans	10-12	7	5,2	1,9	10,8	3,4	
	10 ans	10	8	5,6	1,3	11,0	2,6	

95 ml environ d'eau distillée à 100° C, agiter et porter 2 minutes à 100° C. Refroidir rapidement à + 15° C et ajuster à 100 ml.

Cette solution doit se préparer quotidiennement.

— *Solution iodo-iodurée* : préparer une solution-mère : 1 g iode, 2 g iodure de potassium, eau distillée q.s.p. 100 ml. Conserver à + 4° C, dans un flacon en verre coloré. La solution diluée se prépare extemporanément en mélangeant 1 ml de solution-mère avec 24 ml d'eau distillée.

c) MODE OPÉRATOIRE :

Préparer :

— *Témoin n° 1*, non incubé (réglage du photolorimètre) : 1 ml de solution tampon phosphate de pH 6,0, 1 ml de solution d'amidon et 1 ml d'eau distillée.

Faire incuber pendant 15 minutes et 30 minutes, dans un bain-marie équipé d'un thermostat Thermomix réglé à + 37° C :

— *Chaque essai* (activité enzymatique) : 1 ml de solution tampon phosphate de pH 6,0, 1 ml de solution d'amidon et 1 ml de préparation enzymatique.

— *Témoin n° 2* (activité spontanée) : 1 ml de solution tampon phosphate de pH 6,0, 1 ml de solution d'amidon et 1 ml d'eau distillée.

Au terme de l'incubation, prélever 1 ml dans tous les tubes (essais et témoins) et ajouter successivement : 15 ml d'eau distillée, 1 ml de solution iodo-iodurée diluée et 8 ml d'eau distillée.

Agiter, laisser reposer 5 minutes et apprécier la coloration obtenue au photolorimètre à 600 m μ .

N.B. — (En fin d'incubation, *si nécessaire*, ajouter dans tous les tubes 1 ml d'acide trichloracétique à 10 p. cent. Agiter, centrifuger et prélever 1,33 ml de surnageant. Procéder ensuite comme indiqué ci-dessus.)

Effectuer l'*étalonnage* à l'aide de la solution d'amidon dont les volumes de 0 - 0,1..... 0,9 - 1 ml sont additionnés de 1 ml de solution tampon phosphate et de 2 - 1,9..... 1,1 et 1 ml d'eau distillée. Reprendre 1 ml du mélange et procéder comme ci-dessus. Les volumes obtenus correspondent respectivement à 100 - 90..... 10 - 0 p. cent d'activité.

III. — RESULTATS

Les résultats concernant l'activité amylasique au niveau de la cornée chez les bovidés figurent au tableau XIV; l'activité constatée chez l'animal adulte se révèle très légèrement supérieure à celle qui est décelée chez le jeune Veau.

Quoique relativement importante, elle se révèle inférieure cepen-

dant à celle constatée par exemple au niveau du rein chez la Souris (47) où elle atteint environ 25 p. cent pour une dilution de 1/200^e après 15 minutes d'incubation.

ACTIVITÉ BÉTA - GLUCURONIDASIQUE

I. — GENERALITES

Les glucuronidases sont des enzymes pouvant hydrolyser certains glucuroconjugués naturels ou synthétiques en libérant d'une part l'aglucone et d'autre part un glucuronide.

La β -glucuronidase est une enzyme très répandue que l'on rencontre aussi bien chez les micro-organismes (96, 249) que dans l'émulsine ou le suc digestif des invertébrés (249) et chez l'Homme et les animaux, rares sont les tissus qui n'en renferment pas (96, 515, 517).

D'autre part, l'enzyme semble jouer un rôle important dans le métabolisme et l'action des hormones œstrogènes et de nombreux travaux ont permis de mettre en évidence les variations de son activité dans certains états physio-pathologiques aussi bien chez l'animal que chez l'Homme (96).

II. — DOSAGE

a) PRINCIPE :

L'activité β -glucuronidasique est appréciée suivant la technique de TALALAY et coll. (517) légèrement modifiée (51). L'hydrolyse enzymatique du phénolphtaléine-glucuronide à $+ 37^{\circ}$ C en milieu tampon acéto-acétique de pH 4,5, libère la phénolphtaléine de façon quantitative. La coloration obtenue en milieu tampon glyco-colle de pH 10,45 est appréciée au photocolorimètre à 550 m μ .

b) RÉACTIFS :

— *Solution tampon acéto-acétique 0,1 M de pH 4,5* : faire dissoudre dans l'eau distillée 5,785 g acétate de sodium crist. R.P., ajouter 3,25 ml acide acétique cristallisable (99 p. cent) et compléter à 1 litre avec de l'eau distillée. Conserver à $+ 4^{\circ}$ C.

— *Solution tampon de glyco-colle 0,4 M de pH 10,45.*

Préparer 2 solutions, à conserver à $+ 4^{\circ}$ C :

TABLEAU XV

ACTIVITÉ BÉTA-GLUCURONIDASIQUE

(Pourcentage de substrat métabolisé)

Préparations enzymatiques	Age moyen	Nombre de cornées par expérience	Nombre d'expériences	Temps d'incubation (en heures)			
				6		18	
				M	σ	M	σ
Activité spontanée				0		0	
Surnageants d'homogénats dilués au 1/10*	6 mois	10-14	7	20,0	6,2	42,3	5,7
	2 ans	10-12	10	20,3	4,2	42,0	2,9
	10 ans	8	9	23,3	1,9	42,6	2,2
Dilués au 1/20*	6 mois	10-14	7	13,5	2,9	31,2	7,6
	2 ans	10-12	10	13,5	2,6	31,5	5,0
	10 ans	8	9	14,7	2,8	32,2	2,1
Dilués au 1/50*	6 mois	10-14	7	8,2	1,6	17,2	4,8
	2 ans	10-12	10	8,0	1,8	16,7	4,0
	10 ans	8	9	7,0	1,2	15,7	4,4
Dilués au 1/100*	6 mois	10-14	7	3,6	1,0	8,2	2,7
	2 ans	10-12	10	3,5	1,0	8,7	2,9
	10 ans	8	9	3,3	0,7	7,7	1,9

<i>Solution A</i> :	Glycocolle	7,505 g.
	Chlorure de sodium	5,850 g.
	Alcool à 80°	20 ml.
	Eau distillée q.s.p.	1 000 ml.
<i>Solution B</i> :	Soude N/10	1 000 ml.

Mélanger extemporanément 560 ml solution A et 440 ml solution B.

— *Solution de substrat* : mono- β -glucuronide de la phénolphtaléine 0,0005 M (P.P.G.). Faire dissoudre 12,35 mg de P.P.G. dans 50 ml d'eau distillée. Répartir en flacons de polythène et conserver à — 25° C.

— *Solution d'acide trichloracétique* N/2. Conserver à + 4° C.

— *Solution de soude* N/2. Conserver à + 4° C.

c) MODE OPÉRATOIRE :

Préparer :

— *Témoin n° 1*, non incubé (réglage du photocolorimètre) : 2 ml de solution tampon acéto-acétique de pH 4,5, 1 ml de solution de substrat P.P.G. et 1 ml d'eau distillée.

Faire incuber pendant 6 heures et 18 heures, dans un bain-marie équipé d'un thermostat Thermomix réglé à + 37° C :

— *Chaque essai* (activité enzymatique) : 2 ml de solution tampon acéto-acétique de pH 4,5, 1 ml de solution de substrat P.P.G. et 1 ml de préparation enzymatique.

— *Témoin n° 2* (activité spontanée) : 2 ml de solution tampon acéto-acétique de pH 4,5, 1 ml de solution de substrat P.P.G. et 1 ml d'eau distillée.

Au terme de l'incubation, ajouter dans tous les tubes (essais et témoins) 2 ml de solution d'acide trichloracétique N/2 pour stopper la réaction. Agiter, centrifuger. Prélever 3 ml de surnageant, ajouter 1 ml de soude N/2 et compléter à 10 ml avec la solution tampon glycocolle de pH 10,45. Agiter et apprécier la coloration obtenue par photocolorimétrie à 550 m μ .

L'étalonnage est pratiqué avec une solution alcoolique de phénolphtaléine 0,0005 M, dont les volumes de 0 - 0,05 - 0,10..... 0,45 - 0,50 ml additionnés de 1 - 0,95 - 0,90..... 0,55 - 0,50 ml d'eau distillée, de 1 ml de tampon acéto-acétique de pH 4,5 et de 1 ml d'acide trichloracétique N/2, sont traités comme le surnageant indiqué ci-dessus et correspondent respectivement à 0 - 10..... 90 - 100 p. cent d'activité.

III. — RESULTATS

Les résultats concernant l'activité β -glucuronidasique au niveau

de la cornée chez les bovidés figurent au tableau XV; cette activité semble constante quel que soit l'âge des animaux.

Nous pouvons noter qu'elle est particulièrement élevée puisqu'elle surpasse celle décelée au niveau de la rétine (50) (surnageants d'homogénats au 1/10^e : 14 à 20 p. cent d'activité après 6 heures d'incubation). Elle avoisine celle qui est constatée dans le tissu placentaire humain (51) (surnageants d'homogénats au 1/10^e : 19 p. cent d'activité après 5 heures d'incubation) et se révèle infiniment supérieure à celle des hématies et du plasma correspondants dont le pourcentage de scission est respectivement de 0,5 et 4 p. cent en 24 heures.

ACTIVITÉ LEUCINE AMINOPEPTIDASIQUE

I. — GENERALITES

La leucine aminopeptidase est une exopeptidase dont la présence a été décelée dans de nombreux tissus végétaux et animaux. Chez ces derniers, elle a une répartition apparemment intracellulaire (498) et il a été noté qu'elle se trouve en grande quantité dans certains organes spécialisés tels rein, foie et duodénum. Son pouvoir d'hydrolyse s'adresse à un grand nombre d'amides et de peptides; elle doit son nom au fait qu'elle hydrolyse la L-leucinamide et les peptides à leucine alors que les substrats N-acétylés ne subissent aucune action.

In vitro, cette enzyme catalyse la réaction suivante :

L.A.P.

L-leucyl- β -naphtylamide + eau $\longrightarrow$ leucine + β -naphtylamine

Récemment, quelques auteurs se sont intéressés aux variations pathologiques des taux sériques et urinaires de cette enzyme au cours des affections pancréatiques et hépato-biliaires (192, 498). De plus, de nombreux travaux ont permis de mettre en évidence une activité leucine aminopeptidasique, dans le placenta, les sangs de la mère et du nouveau-né (39), les plaquettes sanguines (124), ainsi que dans l'humeur aqueuse, le corps vitré (34, 48) et la rétine (115).

II. — DOSAGE

a) PRINCIPE :

L'activité leucine aminopeptidasique est appréciée suivant la technique de GOLDBARC et RUTENBURG (192) quelque peu modifiée (34). La quantité de β -naphtylamine libérée par hydrolyse du L-leucyl- β -naphtylamide est appréciée par photolorimétrie à 560 m μ selon la technique de BRATTON et MARSHALL (82).

b) RÉACTIFS :

— *Solution tampon de phosphates 0,2 M de pH 7,0* : mélanger en proportions convenables PO₄H₂K à 27,4 g.p.l. (40 ml) et PO₄HNa₂, 12 H₂O à 71,6 g.p.l. (60 ml). Conserver à + 4° C.

ACTIVITÉ LEUCINE-AMINOPEPTIDASIQUE

(Pourcentage de substrat métabolisé)

Préparations enzymatiques	Age moyen	Nombre de cornées par expérience	Nombre d'expériences	Temps d'incubation (en heures)			
				1/2		1	
				M	σ	M	σ
Activité spontanée				0		0	
Surnageants d'homogénats dilués au 1/200*	6 mois	10-14	9	30,0	1,6	50,0	2,3
	2 ans	10-12	6	31,6	2,2	56,0	7,3
	10 ans	10	9	30,6	1,0	52,5	3,3
Dilués au 1/500*	6 mois	10-14	9	12,0	1,3	20,5	1,9
	2 ans	10-12	6	12,6	1,2	23,0	1,5
	10 ans	10	9	12,0	1,7	21,0	5,2
Dilués au 1/800*	6 mois	10-14	6	6,0	0,6	10,6	1,2
	2 ans	10-12	6	7,0	0,8	13,0	0
	10 ans	10	9	6,2	1,7	11,6	3,0
Dilués au 1/1000*	6 mois	10-14	8	4,3	0,7	6,9	1,3
	2 ans	10-12	6	5,2	0,6	8,5	1,0
	10 ans	10	9	4,3	1,0	7,7	1,6

— *Solution de L-leucyl- β -naphtylamide HCl* : $3,425 \cdot 10^{-4}$ M (PM = 292,7). Préparer une solution aqueuse de chlorhydrate de L-leucyl- β -naphtylamide à 0,2 mg par ml et mélanger à parties égales avec le tampon phosphate. Répartir en flacons de polythène. Conserver à -25° C.

— *Solution aqueuse de nitrite de sodium à 0,1 p. 100*. Préparer quotidiennement la solution dans l'eau distillée glacée.

— *Solution aqueuse de sulfamate d'ammonium à 0,5 p. 100*. Conserver à $+4^{\circ}$ C.

— *Solution de chlorhydrate de N-naphtyléthylènediamine à 0,05 p. 100* dans l'éthanol à 95° . Conserver à $+4^{\circ}$ C dans un flacon en verre coloré.

— *Solution d'acide trichloracétique à 15 p. 100*. Conserver à $+4^{\circ}$ C.

— *Solution de β -naphtylamine à $3,425 \cdot 10^{-4}$ M* (PM = 143,2).

Préparer une solution-mère : 49,04 mg de β -naphtylamine, 50 ml d'éthanol à 95° , eau q.s.p. 100 ml. La solution aqueuse à 4,90 mg p. 100 ml, s'obtient par dilution au $1/10^e$ de la solution-mère. A préparer extemporanément.

c) MODE OPÉRATOIRE :

Préparer 2 témoins (non incubés) :

— *Témoin n° 1* (réglage du photolorimètre) : 1 ml de solution tampon phosphate de pH 7,0 et 1 ml d'eau distillée.

— *Témoin n° 2* (substances diazotables de la préparation enzymatique) : 1 ml de solution tampon phosphate de pH 7,0 et 1 ml de préparation enzymatique.

Faire incuber pendant 1/2 heure et 1 heure, dans un bain-marie équipé d'un thermostat Thermomix réglé à $+37^{\circ}$ C :

— *Chaque essai* (hydrolyse enzymatique) : 1 ml de préparation enzymatique et 1 ml de solution de substrat $3,425 \cdot 10^{-4}$ M.

— *Témoin n° 3* (hydrolyse spontanée) : 1 ml d'eau distillée et 1 ml de solution de substrat $3,425 \cdot 10^{-4}$ M.

Au terme de l'incubation, ajouter dans tous les tubes (essais et témoins) 1 ml d'acide trichloracétique à 15 p. 100 pour stopper la réaction. Agiter, centrifuger. Prélever 1 ml de surnageant et ajouter successivement à la température du laboratoire (20° C environ) :

— 1 ml de solution de nitrite de sodium à 0,1 p. 100. Agiter, repos 3 minutes.

— 1 ml de solution de sulfamate d'ammonium à 0,5 p. 100. Agiter, repos 2 minutes.

— 2 ml de solution de N-naphtyléthylènediamine à 0,05 p. 100. Agiter, repos 20 à 60 minutes à la température du laboratoire (20° C environ).

Laisser la coloration se développer 30 minutes environ et effectuer la lecture au photocolorimètre à 560 m μ .

L'étalonnage est pratiqué avec la solution de β -naphtylamine $3,425 \cdot 10^{-4}$ M, dont les volumes de 0 - 0,1..... 0,9 - 1 ml additionnés de 1 - 0,9..... 0,1 - 0 ml d'eau distillée sont mis à la place du substrat et correspondent respectivement à 0 - 10..... 90 - 100 p. cent d'hydrolyse.

III. — *RESULTATS*

Les résultats concernant l'activité leucine aminopeptidasique au niveau de la cornée chez les bovidés figurent au tableau XVI; cette activité se révèle à peine plus élevée chez l'animal adulte que chez le Veau.

Si cette activité surpasse très largement celle des humeurs de l'œil (48), elle demeure cependant inférieure à celle de la rétine de bovidés (115) (surnageants d'homogénats au 1/500^e : 27 à 34 p. cent d'activité après 30 minutes d'incubation), et très inférieure encore à l'activité constatée au niveau d'autres tissus, tel le rein chez la Souris (47), où pour une dilution au 1/2000^e, l'activité atteint encore 23 p. cent après le même temps d'incubation.

ACTIVITÉ ADÉNOSINE TRIPHOSPHATASIQUE

I. — GENERALITES

L'adénosine-triphosphate peut être transformé par un si grand nombre d'enzymes qu'il est souvent difficile de préciser leurs comportements respectifs. De plus, de nombreuses phosphatases agissent aussi sur l'A.T.P., aussi la distinction d'une A.T.P. ase est bien souvent aléatoire (249).

Enzyme à très large spécificité, l'A.T.P. ase a été signalée dans divers micro-organismes et végétaux, cependant les A.T.P. ases animales sont les mieux connues, principalement celle du muscle. Les spermatozoïdes renferment également cette enzyme qui semble jouer un rôle dans l'utilisation métabolique du fructose, ose caractéristique du sperme chez les Mammifères; de plus, il a été possible de mettre en évidence son rôle prépondérant dans la minéralisation du cartilage ossifiable (249). Sa présence a été également décelée au niveau de divers tissus : rétine, foie (249), thymus (399), rein (5), prostate (524), placenta (123, 434), épiphyse (126).

II. — DOSAGE

a) PRINCIPE :

L'activité adénosine-triphosphatasique est appréciée selon la technique de PERRY (413) légèrement modifiée (123) et dont le principe consiste à estimer par méthode photolorimétrique à 650 m μ , la quantité de phosphate inorganique libéré par l'enzyme à partir de l'adénosine-triphosphate, en présence d'ions calcium et sous certaines conditions réputées spécifiques.

b) RÉACTIFS :

— *Solution tampon de glycolle-soude 0,2 M de pH 9,1 :*

Préparer 2 solutions, à conserver à + 4° C.

Solution A : glycolle 15,01 g.
eau distillée q.s.p. 1 000 ml.

Solution B : solution de soude 0,2 N.

Mélanger extemporanément 50 ml de solution A et 10,2 ml de solution B et compléter à 200 ml avec de l'eau distillée. Vérifier le pH.

TABLEAU XVII

ACTIVITÉ ADÉNOSINE TRIPHOSPHATASIQUE

(Pourcentage de substrat métabolisé)

Préparations enzymatiques	Age moyen	Nombre de cornées par expérience	Nombre d'expériences	Temps d'incubation (en heures)					
				2				4	
				M	σ	M	σ	M	σ
Activité spontanée				0		0			
Surnageants d'homogénats dilués au 1/5 ^e	6 mois	10-14	8	10,0	1,2	13,5			1,4
	2 ans	10-12	8	10,2	1,3	14,0			1,2
	10 ans	10	7	11,6	0,5	16,5			0,5
Dilués au 1/10 ^e	6 mois	10-14	8	6,5	0,8	8,8			0,9
	2 ans	10-12	8	6,1	1,0	8,6			0,8
	10 ans	10	7	7,3	0,8	10,0			0,7
Dilués au 1/20 ^e	6 mois	10-14	8	3,6	0,8	5,4			1,1
	2 ans	10-12	8	3,3	0,6	5,1			0,4
	10 ans	10	7	4,3	0,8	6,4			0,4
Dilués au 1/50 ^e	6 mois	10-14	8	ε	—	3,4			0,9
	2 ans	10-12	8	ε	—	3,0			0,8
	10 ans	10	7	ε	—	3,5			0,5

— *Solution de substrat : adénosine-triphosphate (A.T.P.)* 0,05 M à 0,3115 g pour 10 ml d'eau distillée. Répartir en flacons de polythène et conserver à -25° C.

— *Solution de chlorure de calcium 0,1 M* : faire dissoudre 11,1 g dans 1 litre d'eau distillée. Conserver à $+4^{\circ}$ C.

— *Solution aqueuse d'acide trichloracétique à 15 p. 100.* Conserver à $+4^{\circ}$ C.

— *Solution de molybdate d'ammonium :*

Molybdate d'ammonium	5 g.
Acide sulfurique conc.	14,7 g.
Eau distillée q.s.p.	100 ml.

Conserver à $+4^{\circ}$ C.

— *Réactif de Fiske et Subbarow :*

Acide 1-amino-2-naphtol-4-sulfonique	0,2 g.
Métabisulfite de sodium	12 g.
Sulfite anhydre de sodium	1,2 g.
Eau distillée q.s.p.	100 ml.

Homogénéiser au Virtis 45. Conserver en verre coloré à $+4^{\circ}$ C.

c) MODE OPÉRATOIRE :

Préparer 2 témoins (non incubés) :

— *Témoin n° 1* (réglage du photocolorimètre) : 1 ml de solution tampon glyocolle de pH 9,1, 0,2 ml de solution de chlorure de calcium, 0,5 ml d'eau distillée et 0,3 ml de solution de substrat A.T.P.

— *Témoin n° 2* (présence éventuelle de phosphore dans la préparation) : 1 ml de solution tampon glyocolle de pH 9,1, 0,2 ml de solution de chlorure de calcium, 0,5 ml de préparation enzymatique et 0,3 ml d'eau distillée.

Faire incuber pendant 2 heures et 4 heures dans un bain-marie équipé d'un thermostat Thermomix réglé à $+25^{\circ}$ C :

— *Chaque essai* (activité enzymatique) : 1 ml de solution tampon glyocolle de pH 9,1, 0,2 ml de solution de chlorure de calcium, 0,5 ml de préparation enzymatique et 0,3 ml de solution de substrat A.T.P.

— *Témoin n° 3* (activité spontanée) : 1 ml de solution tampon glyocolle de pH 9,1, 0,2 ml de solution de chlorure de calcium, 0,5 ml d'eau distillée et 0,3 ml de solution de substrat A.T.P.

Au terme de l'incubation, ajouter dans tous les tubes (essais et témoins) 1 ml de solution d'acide trichloracétique à 15 p. 100. Agiter, centrifuger. Prélever 0,33 ml de surnageant, ajouter q.s.p. 1 ml d'eau distillée, puis successivement 1 ml de solution de molybdate acide d'ammonium, 3 ml d'eau distillée, 0,5 ml de réac-

tif de Fiske et compléter à 10 ml avec de l'eau distillée. Agiter, laisser reposer 5 minutes et apprécier la coloration obtenue au photolorimètre à 650 m μ .

L'étalonnage est pratiqué à l'aide d'une solution aqueuse de PO₄H₂K à 218 mg par litre (50 μ g de P par ml) dont les volumes de 0 - 0,1..... 0,9 - 1 ml additionnés de 1 - 0,9..... 0,1 - 0 ml d'eau distillée, sont colorés par la méthode de Fiske et Subbarow indiquée ci-dessus et correspondent respectivement à 0 - 10..... 90 - 100 p. cent d'activité.

Remarque : Précisons que dans nos conditions expérimentales, il ne s'agit vraisemblablement pas d'une *A.T.P* ase vraie, mais plutôt d'une *phosphatase alcaline non spécifique*.

III. — RESULTATS

Les résultats concernant cette activité enzymatique au niveau de la cornée chez les bovidés figurent au tableau XVII. L'examen de ces résultats nous permet de constater une activité faible chez le Veau, très légèrement supérieure chez l'animal adulte.

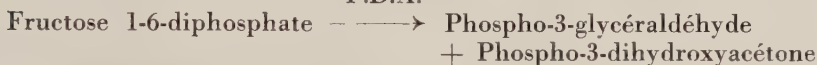
Si nous comparons les taux indiqués ci-dessus à ceux obtenus au niveau d'autres tissus, nous voyons que l'activité décelée dans la cornée est très inférieure à celle du rein chez la Souris par exemple (5) où pour une dilution de 1/10^e, après 15 minutes d'incubation, le taux constaté est de 60 p. cent; elle est également moindre que l'activité relevée au niveau de la glande prostatique de Rat (524) pour laquelle le taux atteint 18 p. cent, pour une dilution au 1/100^e après 30 minutes d'incubation.

ACTIVITÉ FRUCTOSE DIPHOSPHATE ALDOLASIQUE

I. — GENERALITES

La fructose diphosphate aldolase est une enzyme dont l'existence a été mise en évidence pour la première fois par MEYERHOF (359) ; c'est une aldéhyde-lyase. Elle catalyse la réaction suivante :

F.D.A.



Cette enzyme a fait l'objet de nombreux travaux qui ont permis de préciser sa très large répartition dans divers milieux biologiques (34, 35, 48, 116, 469, 493) et d'étudier les variations de son activité dans certains états pathologiques (125, 129).

II. — DOSAGE

a) PRINCIPE :

L'activité fructose diphosphate aldolasique est appréciée suivant la méthode de SIBLEY et LEHNINGER (493), reprise par SCHAPIRA (469), avec quelques modifications de détails (34, 118). Les trioses phosphates, formés sous l'action de l'enzyme sur le substrat, sont fixés en hydrazones par l'hydrazine qui empêche l'isomérisation de la phosphoglycéraldéhyde en phosphodihydroxyacétone, donnant une réaction plus accentuée avec les réactifs de coloration. La réaction enzymatique est stoppée par l'acide trichloracétique. Une portion aliquote de déféquat libère, après alcalinisation, les hydrazones des trioses phosphates, ce qui stabilise la formation ultérieure d'osones. La 2-4-dinitro-phénylhydrazine, en milieu acide, permet l'obtention d'un chromogène d'osones et la coloration qui se développe en milieu alcalin, est estimée par photolorimétrie à 540 m μ .

b) RÉACTIFS :

— *Solution tampon de collidine 0,4 M de pH 7,2* : peser 2,44 g de collidine (environ 2,56 ml) dans un flacon préalablement taré ; ajouter de l'eau distillée et transvaser dans un ballon jaugé de 50 ml. Ajuster le pH à 7,2 à l'aide de HCl N, puis amener le volume final à 50 ml à l'aide d'eau distillée. Conserver à + 4° C.

TABLEAU XVIII

ACTIVITÉ FRUCTOSE DIPHOSPHATE ALDOLASIQUE

(Pourcentage de substrat métabolisé)

Préparations enzymatiques	Age moyen	Nombre de cornées par expérience	Nombre d'expériences	Temps d'incubation (en heures)				
				1		2		
				M	σ	M	σ	σ
Activité spontanée				0,5	0,1	1,0	0,3	
Surnageants d'homogénats dilués au 1/10 ^e	6 mois	10-14	8	18,0	1,5	31,0	3,4	
	2 ans	10-12	9	20,0	0,9	36,0	0,6	
	10 ans	10	10	21,0	1,5	38,0	5,0	
Dilués au 1/20 ^e	6 mois	10-14	8	8,0	0,8	16,0	1,7	
	2 ans	10-12	9	9,7	1,0	19,0	2,0	
	10 ans	10	10	10,3	0,8	20,0	3,2	
Dilués au 1/50 ^e	6 mois	10-14	8	2,7	0,4	6,0	1,3	
	2 ans	10-12	9	3,3	0,7	7,6	1,3	
	10 ans	10	9	3,7	0,7	8,0	2,3	
Dilués au 1/100 ^e	6 mois	10-14	6	1,4	0,4	3,6	1,1	
	2 ans	10-12	9	1,5	0,1	3,1	0,4	
	10 ans	10	9	1,9	0,5	3,4	0,5	

— *Substrat : Fructose 1-6-diphosphate de sodium F.D.P Na*; utiliser une solution aqueuse de F.D.P Na 0,01 M. Ce dernier n'étant pas toujours disponible, le préparer par double décomposition à partir de F.D.P Ca selon la technique suivante : peser dans un tube à centrifuger environ 500 mg de F.D.P Ca et ajouter 6 ml de HCl 0,1 N. Triturer pendant 10 à 15 minutes à l'aide d'un petit pilon de verre et ajouter goutte à goutte une solution saturée de $C_2O_4Na_2$, jusqu'à ce qu'il ne se forme plus de précipité (attendre chaque fois le temps nécessaire à sa formation). Centrifuger, filtrer dans un ballon jaugé de 100 ml, ajuster le pH à 7,2 très exactement avec NaOH N et compléter à 100 ml avec de l'eau distillée. Répartir en flacons de polythène et conserver à — 25° C.

— *Solution de sulfate d'hydrazine 0,056 M de pH 7,2* : peser 0,728 g pour 100 ml d'eau distillée. Ajuster le pH à 7,2 à l'aide de NaOH N. Conserver à + 4° C.

— *Solution aqueuse d'acide trichloracétique à 8 p. 100*. Conserver à + 4° C.

— *Solution de 2-4 dinitrophénylhydrazine (2-4 D.N.P.H.) à 1 p. 1000* dans HCl 2N. Conserver à l'abri de la lumière à + 4° C.

— *Solutions de soude 0,75 N et 2 N*. Conserver à + 4° C.

— *Solution d'acide sulfurique 2 N*. Conserver à + 4° C.

— *Solution aqueuse de molybdate acide d'ammonium à 5 p. 100*. Conserver à + 4° C.

— *Réactif de Fiske et Subbarow* :

Acide 1-amino-2-naphtol-4-sulfonique	0,2 g.
Métabisulfite de sodium	12 g.
Sulfite anhydre de sodium	1,2 g.
Eau distillée q.s.p.	100 ml.

Homogénéiser au Virtis 45. Conserver en verre coloré à + 4° C.

— *Solution aqueuse étalon de PO_4H_2K à 218 mg p. 1000* (50 µg de P par ml).

c) MODE OPÉRATOIRE :

Préparer 2 témoins (non incubés) :

— *Témoin n° 1* (réglage du photocolorimètre) : 0,5 ml du mélange extemporané, à parties égales, de la solution de tampon collidine et de la solution de sulfate d'hydrazine; 0,5 ml d'eau distillée et 1,25 ml de solution de F.D.P. Na 0,01 M.

— *Témoin n° 2* (présence éventuelle de trioses phosphates dans la préparation) : 0,5 ml du mélange extemporané, à parties égales, de la solution de tampon collidine et de la solution de sulfate d'hydrazine; 1,25 ml de solution de F.D.P. Na 0,01 M; 2,5 ml de solution d'acide trichloracétique à ajouter avant 0,5 ml de préparation enzymatique.

Faire incuber pendant 1 heure et 2 heures, dans un bain-marie équipé d'un thermostat Thermomix réglé à $+ 25^{\circ} \text{C}$:

— *Chaque essai* (activité enzymatique) : 0,5 ml du mélange extemporané, à parties égales, de la solution de tampon collidine et de la solution de sulfate d'hydrazine; 0,5 ml de préparation enzymatique et 1,25 ml de solution de F.D.P. Na 0,01 M.

— *Témoin n° 3* (activité spontanée) : 0,5 ml du mélange extemporané décrit ci-dessus; 0,5 ml d'eau distillée et 1,25 ml de solution de F.D.P. Na 0,01 M.

Au terme de l'incubation, ajouter dans tous les tubes (essais et témoins) 2,5 ml de solution d'acide trichloracétique. Agiter, laisser reposer 10 minutes, centrifuger. Prélever 1 ml de liquide surnageant, ajouter 1 ml de NaOH 0,75 N, laisser reposer 10 minutes. Ajouter 1 ml de solution de 2-4 dinitrophénylhydrazine; porter le mélange 10 minutes exactement, au bain-marie à $+ 38^{\circ} \text{C}$, ajouter 7 ml de NaOH 0,75 N et laisser reposer pendant 10 minutes. La coloration obtenue est appréciée par photolorimétrie à 540 m μ .

L'étalonnage est effectué par un dosage simultané du phosphore alcali-labile des trioses-phosphates, libérés par hydrolyse enzymatique du fructose 1-6 diphosphate de sodium, par la méthode de Fiske et Subbarow (162) et des trioses-phosphates eux-mêmes par la méthode de Sibley et Lehninger (493) modifiée.

A cet effet, laisser incuber le substrat pendant 3 à 4 heures avec une préparation enzymatique riche en aldolase (surnageant d'homogénat au 1/30^e de muscle jambier de Cobaye par exemple). Opérer selon le mode opératoire décrit ci-dessus et séparer le déféquat trichloracétique en deux fractions :

— Dans la *première*, prélever 1 ml, ajouter 1,30 ml de NaOH 2N, et laisser reposer 20 minutes. Neutraliser à l'aide de 1 ml de SO_4H_2 2N, ajouter 5,20 ml d'eau distillée, 1 ml de solution de molybdate acide d'ammonium à 5 p. 100 et 0,5 ml de réactif de Fiske et Subbarow. Après un repos de 20 minutes, apprécier la coloration au photolorimètre à 650 m μ . Etalonner à l'aide de la solution de $\text{PO}_4\text{H}_2\text{K}$ à 50 μg par ml.

— Dans la *deuxième*, prélever 1 ml et doser les trioses libérés par la 2-4 dinitrophénylhydrazine. Opérer selon le mode opératoire indiqué précédemment.

Expression des résultats en unités Meyerhof.

Soit n le nombre de μg de phosphore libéré, donné par la réaction de Fiske et Subbarow, après déduction du témoin, par une dilution donnée de préparation enzymatique. Ramener la quantité de phosphore d'une part, à la prise d'essai initiale, en multipliant par 4,75 (1,25 ml de F.D.P. Na + 0,50 ml de solution tampon + 0,50 ml de préparation enzymatique + 2,50 ml d'acide trichloracétique = 4,75 ml dont on prélève 1 ml) et d'autre part, au taux de phosphore libéré par minute, en divisant par le temps

d'incubation exprimé en minutes (60 par exemple). Transposer les résultats de $+25^{\circ}\text{C}$ à $+38^{\circ}\text{C}$ (température d'incubation choisie par MEYERHOF pour définir son unité); pour cela, multiplier par 2,96 pour une élévation de $+13^{\circ}\text{C}$ ($Q_{13} = 4,5$; si x est l'élévation pour

$$1 \text{ degré}; x^{18} = 4,5; 18 \log x = \log 4,5; \log x = \frac{0,6532}{18} = 0,0363;$$

$$13 \log x = 0,4719 \text{ et } x^{13} = 2,96).$$

Donc :

$$N = \frac{n \times 4,75 \times 2,96}{60} = 0,2343 \text{ n exprimé en } \mu\text{g.}$$

N, exprimé en mg, représente le nombre d'unités Meyerhof de la prise d'essai de la préparation enzymatique (0,5 ml), ramener au gramme en multipliant par 2. Le nombre de mg de phosphore libéré par minute à $+38^{\circ}\text{C}$ en unités Meyerhof sera :

$$N = \frac{2n \times 0,2343 \times d}{1000} = 0,00047 \text{ n.d.}$$

d = inverse du facteur de dilution de la préparation enzymatique (vaut 10 pour l'essai considéré).

Dans nos conditions expérimentales, la scission enzymatique de 1 p. cent du substrat, après une heure d'incubation, pour la préparation envisagée, correspond à 0,029 U.M.

III. — *RESULTATS*

Les résultats concernant l'activité fructose diphosphate aldolase au niveau de la cornée chez les bovidés figurent au tableau XVIII; cette activité se révèle légèrement plus élevée chez l'animal adulte que chez le jeune Veau.

Si elle surpasse très largement l'activité relevée au niveau des humeurs de l'œil (48) elle reste néanmoins très inférieure à celle qui est notée dans les mêmes conditions expérimentales au niveau de la rétine de bovidés (49) (surnageants d'homogénats au $1/50^{\circ}$: 43 à 55 p. cent d'activité, après 1 heure d'incubation).

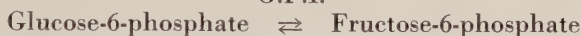
De plus, comparativement à d'autres tissus, elle est également moindre que l'activité d'organes tels que le cœur ou le rein chez le Cobaye (116) où elle atteint environ 20 p. cent pour une dilution au $1/40^{\circ}$, après 1 heure d'incubation, et elle est bien loin d'égaler la richesse du tissu musculaire qui avoisine 66 et 80 p. cent d'activité, respectivement chez le Lapin et le Cobaye, pour une dilution au $1/40^{\circ}$ et après le même temps d'incubation.

ACTIVITÉ GLUCOSEPHOSPHATE ISOMÉRASIQUE

I. — GENERALITES

La glucosephosphate isomérase ou phosphohexose isomérase a été signalée pour la première fois par LOHMANN (332) ; cette enzyme catalyse la conversion du glucose-6-phosphate (G-6-P) en fructose-6-phosphate (F-6-P) selon le schéma :

G.P.I.



En général, l'équilibre est obtenu pour 40 p. 100 de F-6-P, et 60 p. 100 de G-6-P.

Cette enzyme de la glycolyse a fait l'objet d'un grand nombre de travaux, tant pour souligner sa très large répartition dans divers milieux biologiques (34, 35, 40, 43, 48) que pour étudier les variations de son activité dans certains états pathologiques (73, 74).

II. — DOSAGE

a) PRINCIPE :

L'activité glucosephosphate isomérasique est appréciée selon la technique de BODANSKI (73) quelque peu modifiée (34, 48). Le taux de conversion du G-6-P en F-6-P est mis en évidence par la coloration que donne à chaud, le fructose avec le résorcinol, en présence d'ion ferrique en milieu acide — méthode de ROE (451). Cette coloration est estimée par photocolorimétrie à 490 m μ .

b) RÉACTIFS :

— *Solution tampon de véronal-acétate, selon Michaelis, de pH 7,4* : 0,714 g de CH₃COONa, 3H₂O; 14,714 g de véronal sodique et eau distillée q.s. pour 500 ml. Conserver à + 4° C.

— *Solution-mère de substrat, de pH 7,4* : triturer pendant 5 minutes, dans un tube à centrifuger 0,391 g de G-6-P Ba, 7 H₂O avec 2 ml d'eau distillée et HCl 0,1 N q.s. pour dissoudre. Pour précipiter le baryum, ajouter goutte à goutte 4 ml de solution de SO₄Na₂ à 5 p. 100. Triturer, centrifuger et vérifier que le surnageant ne précipite plus par addition d'une goutte de solution de SO₄Na₂. Prélever le surnageant et ajuster le pH à 7,4, à l'aide de NaOH N; compléter à 25 ml avec de l'eau distillée. Agiter, répartir en flacons de polythène et conserver à — 25° C.

TABLEAU XIX

ACTIVITÉ GLUCOSEPHOSPHATE ISOMÉRASIQUE

(Pourcentage de substrat isomérisé)

Préparations enzymatiques	Age moyen	Nombre de cornées par expérience	Nombre d'expériences	(Temps d'incubation (en minutes))			
				5		15	
				M	σ	M	σ
Activité spontanée				2,5	0,6	4,0	0,7
Surnageants d'homogénats dilués au 1/50 ^e	6 mois	10-14	5	23,0	1,0	26,0	1,3
	2 ans	10-12	4	23,0	1,7	26,0	0,8
	10 ans	10	5	24,0	2,3	27,0	0,7
Dilués au 1/100 ^e	6 mois	10-14	10	20,5	2,2	25,0	2,7
	2 ans	10-12	10	21,0	2,6	25,0	2,8
	10 ans	10	10	22,0	2,0	26,0	1,7
Dilués au 1/200 ^e	6 mois	10-14	10	15,5	3,0	23,0	2,9
	2 ans	10-12	10	15,0	2,4	21,0	2,5
	10 ans	10	10	16,5	2,0	22,0	3,0
Dilués au 1/500 ^e	6 mois	10-14	10	8,5	2,6	15,0	3,8
	2 ans	10-12	10	7,0	2,0	14,0	2,7
	10 ans	10	10	10,0	1,9	16,0	2,9
Dilués au 1/1.000 ^e	6 mois	10-14	10	4,0	0,8	7,5	2,9
	2 ans	10-12	10	4,0	1,2	7,0	2,0
	10 ans	10	10	5,0	1,0	9,0	3,0

— *Solution tamponnée de substrat* : mélanger 8,33 ml de solution-mère de substrat, 25 ml de solution tampon et 24 ml de HCl 0,1 N. Ajuster le pH à 7,4 et compléter à 200 ml avec de l'eau distillée. Agiter, répartir en flacons de polythène et conserver à — 25° C.

— *Solution aqueuse d'acide trichloracétique à 5 p. 100*. Conserver à + 4° C.

— *Solution de résorcinol à 0,1 p. 100* dans l'éthanol absolu. Conserver à + 4° C.

— *Solution chlorhydrique de perchlorure de fer* : dissoudre extemporanément 0,75 mg de perchlorure de fer dans 100 ml d'HCl 10 N.

— *Solution aqueuse étalon de fructose* à 90 mg p. litre.

c) MODE OPÉRATOIRE :

Préparer 2 témoins (non incubés) :

— *Témoin n° 1* (réglage du photocolorimètre) : 2 ml d'eau distillée.

— *Témoin n° 2* (quantité de fructose de la préparation enzymatique) : 0,5 ml de préparation enzymatique et 2 ml de solution tampon véronal-acétate.

Faire incuber pendant 5 minutes et 15 minutes dans un bain-marie équipé d'un thermostat Thermomix réglé à + 37° C :

— *Chaque essai* (activité enzymatique) : 0,5 ml de préparation enzymatique et 2 ml de solution tamponnée de substrat.

— *Témoin n° 3* (conversion spontanée du substrat) : 0,5 ml d'eau distillée et 2 ml de solution tamponnée de substrat.

Au terme de l'incubation, ajouter 2,5 ml de solution d'acide trichloracétique à 5 p. 100 pour stopper la réaction. Agiter, centrifuger. Prélever 2 ml de surnageant et ajouter dans tous les tubes (témoin n° 1 compris) : 2 ml de solution de résorcinol à 0,1 p. 100 dans l'éthanol absolu et 6 ml de solution chlorhydrique de perchlorure de fer. Porter pendant 8 minutes, au bain-marie à $80 \pm 1^\circ$ C. Refroidir et apprécier la coloration par photocolorimétrie à 490 m μ .

L'étalonnage est effectué à l'aide de la solution de fructose, dont les volumes de 0 - 0,2..... 1,8 - 2 ml, additionnés de 2 - 1,8..... 0,2 - 0 ml d'eau distillée et traités comme les 2 ml de surnageant, correspondent à 0 - 10..... 90 - 100 p. cent de conversion du substrat.

III. — RESULTATS

Les résultats concernant l'activité glucosephosphate isomérasique au niveau de la cornée chez les bovidés, figurent au tableau XIX. Nous pouvons constater que cette activité très marquée, supérieure à celle des humeurs aqueuse et vitrée (48), ne subit pas de variations sensibles avec l'âge des animaux.

Nous pouvons noter que la rétine de bovidés (115) possède une activité environ 2 fois supérieure, atteignant 18 à 21 p. cent pour une dilution au $1/100^e$, après 15 minutes d'incubation.

Par comparaison avec d'autres tissus, nous voyons que l'activité de la cornée se rapproche, entre autres, de celle du rein de Souris (47) ou de la glande prostatique de Rat (524) où pour des dilutions au $1/400^e$ et au $1/200^e$, elle atteint respectivement 23 et 30 p. cent après 15 minutes d'incubation également.

ÉTUDE HISTOCHIMIQUE

TECHNIQUES HISTO-ENZYMOLOGIQUES

A la suite de l'étude biochimique, il nous a paru intéressant d'étudier la localisation histochimique de quelques activités enzymatiques, au niveau des différentes couches de la cornée.

Les yeux de bovidés utilisés pour notre expérimentation sont prélevés dès l'abattage des animaux et les cornées recueillies au plus tard dans l'heure qui suit. Elles sont classées en trois catégories : veaux, adultes jeunes et adultes âgés.

Les coupes de tissus frais ou fixés sont effectuées selon deux modalités : soit au microtome à congélation (Reichert) à 25-30 μ d'épaisseur, elles sont alors reçues directement dans le milieu d'incubation; soit au cryostat (International Harris) d'une épaisseur de 8-10 μ et reçues sur lamelles puis séchées à l'air. Les milieux d'incubation sont toujours soigneusement filtrés et les montages se font en glycérine ou baume.

1. — *ACTIVITE LACTATE DEHYDROGENASIQUE*

— Technique de HESS, SCARPELLI et PEARSE (228) modifiée selon OGATA et MORI (398).

a) PRINCIPE :

L'enzyme en présence de cyanure de potassium, enlève de l'hydrogène au substrat (lactate de sodium) pour le transférer sur le NAD qui se transforme en NADH₂. Le diazonium oxydé nitro B.T. est réduit par le NADH₂ en formazan coloré et insoluble qui précipite.

b) MODE OPÉRATOIRE :

Opérer sur tissus frais, non fixés; incuber 15 à 30 minutes à + 37° C dans :

Lactate de sodium 0,5 M	4 ml.
NAD (2,5 mg/2 ml)	2 ml.
Cyanure de potassium (1 cg/2 ml)	2 ml.
(ajusté à pH 7,2 à l'aide de HCl 0,5 M)	
Nitro B.T. (5 mg/2 ml)	2 ml.
Tampon phosphates 0,1 M de pH 7,2	11 ml.
Laver à l'eau distillée. Monter en glycérine.	

II. — ACTIVITE GLUCOSE-6-PHOSPHATE DEHYDROGENASIQUE

— Techniques imitées de SCHIFFER et VESCO (470), OGATA et MORI (398).

a) PRINCIPE :

L'enzyme en présence de cyanure de sodium, enlève de l'hydrogène au substrat G-6-P pour le transférer sur le NADP qui se transforme en NADPH₂. Le diazonium oxydé nitro B.T. est réduit par le NADPH₂ en formazan coloré et insoluble.

b) MODE OPÉRATOIRE :

Opérer sur tissus frais, non fixés; incuber 15 à 30 minutes à + 37° C dans :

Nitro B.T.	0,003	g.
Tampon tris 0,2 M de pH 7,3	2	ml.
Polyvidone K 30	0,0075	g.
NADP	0,002	g.
G-6-P Na ₂	0,008	g.
Cyanure de sodium 0,1 M	0,1	ml.
Chlorure de magnésium 0,05 M	0,1	ml.
Fluorure de sodium 0,01 M	0,05	ml.
Eau distillée	1,5	ml.

Laver à l'eau distillée. Monter en glycérine.

III. — ACTIVITE SUCCINATE DEHYDROGENASIQUE

— Technique de NACHLAS, TSOU, de SOUZA, CHENG et SELIGMAN (384).

a) PRINCIPE :

Le « système » succinate déhydrogénasique enlève de l'hydrogène au substrat (succinate de sodium) pour le transférer sur le diazonium oxydé nitro B.T. qui passe à l'état réduit et précipite.

b) MODE OPÉRATOIRE :

Opérer sur tissus frais, non fixés; incuber pendant 30 minutes à + 37° C dans :

Tampon phosphates 0,2 M de pH 7,6	5	ml.
Succinate de sodium 0,2 M	5	ml.
Nitro B.T. (1 mg/1 ml)	10	ml.

Laver à l'aide de soluté physiologique, fixer 10 minutes dans le mélange formol-calcium à 6 p. cent. Laver dans l'alcool à 15 p. cent et monter en baume.

IV. — *ACTIVITES NADH₂ ET NADPH₂ TETRAZOLIUM REDUCTASIQUES (Diaphorasiques)*

— Technique imitée de NOVIKOFF (393).

a) PRINCIPE :

Sous l'influence de ces réductases, le NADH₂ ou le NADPH₂ sont changés en NAD ou NADP et l'hydrogène réduit le diazonium oxydé nitro B.T. en formazan coloré et insoluble qui précipite.

b) MODE OPÉRATOIRE :

Opérer sur tissus frais ou tissus fixés dans le mélange formol-calcium à 6 p. cent, pendant 1 heure à + 2° C; incubé 20 minutes (avec NADH₂) et 60 minutes (avec NADPH₂) à + 37° C dans :

NADH ₂ (ou NADPH ₂)	0,004 g.
Eau distillée	0,5 ml.
Tampon phosphates 0,1 M de pH 7,4	0,8 ml.
Nitro B.T. (1 mg/ml)	1 ml.

Laver à l'eau distillée. Monter en glycérine.

V. — *ACTIVITE α-NAPHTYL-ACETATE ESTERASIQUE*

— Technique standard d'azo-couplage (410).

a) PRINCIPE :

L'α-naphtol libéré par hydrolyse enzymatique du substrat (α-naphtyl acétate) est capté par le diazonium de couplage fast blue B qui précipite.

b) MODE OPÉRATOIRE :

Fixer dans le mélange formol-calcium à 6 p. cent, pendant 3 heures à + 2° C; incubé pendant 15 minutes à + 20° C dans :

α-naphtyl acétate	0,01 g. (dans 1 ml acétone)
Fast blue B. (ou naphtanyl diazoblue B)	0,03 g.
Tampon phosphates 0,1 M de pH 7,4	20 ml.

Laver à l'eau distillée et monter en glycérine.

VI. — ACTIVITE 5-BROMO-INDOXYL-ACETATE ESTERASIQUE

— Technique de HOLT et WITHERS (230).

a) PRINCIPE :

L'indoxyle libéré par hydrolyse enzymatique du substrat (5-bromo-indoxyl acétate) s'oxyde en indigo sur les lieux d'activité enzymatique.

b) MODE OPÉRATOIRE :

Fixer dans le mélange formol-calcium à 6 p. cent, pendant 3 heures à $+ 2^{\circ}$ C; incuber pendant 15 minutes à $+ 37^{\circ}$ C dans :

5-bromo-indoxyl-acétate	1,3 mg.
Ethanol	0,1 ml.
Tampon tris 0,1 M de pH 8,0	2 ml.
Ferri cyanure de potassium 0,05 M	1 ml.
Ferrocyanure de potassium 0,05 M	1 ml.
Chlorure de calcium 0,1 M	1 ml.
Eau distillée q.s.p.	10 ml.

Laver à l'eau distillée; déshydrater et monter en baume.

VII. — ACTIVITE PSEUDO-CHOLINESTERASIQUE

— Technique de KOELLE, COERS et GEREBTZOFF (276).

a) PRINCIPE :

La thiocholine libérée par hydrolyse enzymatique de l'acétylthiocholine donne un précipité blanc de thiocholine cuprique qui, avec le sulfure d'ammonium se convertit en un dépôt brun foncé de sulfure de cuivre.

b) MODE OPÉRATOIRE :

Fixer dans le mélange formol-calcium à 6 p. cent, ou dans le formol neutre à 10 p. cent pendant 4 heures à $+ 2^{\circ}$ C; laver à l'eau distillée.

Préparer 4 solutions :

- 1) *Solution de glycocolle* à 3,75 g p. 100 ml d'eau distillée.
- 2) *Solution de sulfate de cuivre* 0,1 M dans l'eau distillée.
- 3) *Solution tampon Walpole* 0,1 M de pH 5,0.
- 4) *Solution de substrat* :

Acétylthiocholine	1,5 cg.
Eau distillée	0,75 ml.
Sulfate de cuivre 0,1 M	0,25 ml.

Centrifuger pendant 15 minutes, prélever le surnageant.

Incuber 15 heures à $+ 37^{\circ}$ C dans :

Solution 1	0,2 ml.
Solution 2	0,2 ml.
Solution 3	5 ml.
Solution 4	0,8 ml.
Eau distillée	3,8 ml.

Laver à l'eau distillée, passer dans la solution de sulfure d'ammonium à 5 p. cent. Laver à l'eau distillée, déshydrater et monter en baume.

VIII. — *ACTIVITE PHOSPHATASIQUE ALCALINE*

1° Technique de GOMORI (195).

a) PRINCIPE :

Le phosphate libéré par hydrolyse enzymatique du glycérophosphate est précipité sous forme de phosphate de calcium. Après l'incubation, celui-ci est révélé par transformation successive en phosphate de cobalt, puis en sulfure de cobalt, de coloration brun noirâtre.

b) MODE OPÉRATOIRE :

Fixer dans l'alcool à 90° ou dans le mélange formol-calcium à 6 p. cent, pendant 3 heures à $+ 2^{\circ}$ C. Recevoir les coupes dans une solution aqueuse de saccharose à 2 p. cent; incuber pendant 1 heure à $+ 37^{\circ}$ C dans :

Glycérophosphate de sodium à 2 p. 100	25 ml.
Véronal sodique à 2 p. 100	25 ml.
Nitrate de calcium à 2 p. 100	10 ml.
Sulfate de magnésium à 2 p. 100	2 ml.
Eau distillée	50 ml.

Laver à l'eau distillée et ensuite passer dans :

Nitrate de cobalt	1 g.
Véronal sodique	0,25 g.
Eau distillée	50 ml.

Passer dans la solution de sulfure d'ammonium à 5 p. cent. Laver à l'eau distillée, déshydrater et monter en baume.

2° Technique standard d'azo-couplage (410).

a) PRINCIPE :

L' α -naphtol libéré par hydrolyse enzymatique du substrat (α -naphtyl phosphate) est copulé avec le diazonium de couplage fast blue B qui donne naissance à un colorant diazoïque qui précipite.

b) MODE OPÉRATOIRE :

Fixer dans le mélange formol-calcium à 6 p. cent, pendant 3 heures à + 2° C; incuber pendant 30 minutes à + 37 °C dans :

α -naphtyl phosphate	0,01 g.
Fast blue B	0,02 g.
(ou fast Garnet G.B.C.)	
Tampon Clark et Lubs pH 9,2	20 ml.

Laver à l'eau distillée. Monter en glycérine.

IX. — *ACTIVITE PHOSPHATASIQUE ACIDE*

1° Technique de GOMORI modifiée selon BARKA et ANDERSON (32).

a) PRINCIPE :

Le phosphate libéré par hydrolyse enzymatique du glycérophosphate est précipité sous forme de phosphate de plomb et révélé par transformation en sulfure de plomb.

b) MODE OPÉRATOIRE :

Fixer dans le mélange formol-calcium à 6 p. cent pendant 3 heures à + 2° C. Recevoir les coupes dans une solution aqueuse de saccharose à 2 p. cent. Préparer 3 solutions :

- 1) Glycérophosphate de sodium à 1,25 p. 100. Ajuster le pH à 5,0 à l'aide de HCl N.
- 2) Tampon tris maléate 0,2 M.
- 3) Nitrate de plomb à 0,2 p. 100.

Incuber pendant 30 minutes à + 37° C dans :

Solution 2	10 ml.
Eau distillée	10 ml.
Solution 1	10 ml.
Solution 3	20 ml.

Laver dans l'eau acétique à 0,1 p. cent, passer dans la solution de sulfure d'ammonium à 5 p. cent. Laver à l'eau distillée, déshydrater et monter en baume.

2° Technique standard d'azo-couplage (410).

a) PRINCIPE :

L' α -naphtol libéré par hydrolyse enzymatique du substrat (α -naphtyl phosphate) est copulé avec le diazonium de couplage fast blue B qui donne naissance à un colorant diazoïque qui précipite.

b) MODE OPÉRATOIRE :

Fixer dans le mélange formol-calcium à 6 p. cent pendant 3 heures à + 2° C; couper et incuber pendant 30 minutes à + 37° C dans :

α -naphtyl-phosphate	0,015 g.
Fast blue B	0,02 g.
Polyvinylpyrrolidone	1,5 g.
Tampon Walpole pH 5,4	20 ml.

Laver à l'eau distillée, déshydrater et monter en baume.

X. — *ACTIVITE 5-NUCLEOTIDASIQUE*

— Technique de WACHSTEIN et MEISEL (554).

a) PRINCIPE :

Le phosphate libéré par hydrolyse enzymatique de l'adénosine-5-monophosphate est transformé en phosphate de plomb, puis révélé au sulfure d'ammonium par la coloration brune du sulfure de plomb obtenu.

b) MODE OPÉRATOIRE :

Fixer dans le mélange formol-calcium à 6 p. cent pendant 3 heures à + 2° C; incuber 30 minutes à + 37° C dans :

Adénosine-5-monophosphate disodique	0,01 g.
Nitrate de plomb	0,035 g.
Sulfate de magnésium	0,01 g.
Eau distillée	30 ml.
Tampon tris 0,2 M de pH 7,2	20 ml.

Laver à l'eau distillée puis à l'eau acétique à 0,5 p. cent. Passer dans la solution de sulfure d'ammonium à 5 p. cent, laver à l'eau distillée. Déshydrater et monter en baume.

XI. — *ACTIVITE NUCLEOSIDE TRIPHOSPHATASIQUE*

— Technique de WACHSTEIN et MEISEL (554), déjà décrite ci-dessus. Le substrat utilisé est l'adénosine-5'-triphosphate disodique.

XII. — ACTIVITE GLUCOSE-6-PHOSPHATASIQUE

— Technique de WACHSTEIN et MEISEL modifiée (554).

a) PRINCIPE :

Le phosphate libéré par hydrolyse enzymatique du glucose-6-phosphate est transformé en phosphate de plomb, puis révélé au sulfure d'ammonium par la coloration brune du sulfure de plomb obtenu.

b) MODE OPÉRATOIRE :

Fixer dans le mélange formol-calcium à 6 p. cent pendant 1 heure à $+ 2^{\circ}$ C; incuber 2 heures à $+ 37^{\circ}$ C dans :

Glucose-6-phosphate de sodium	0,01	g.
Nitrate de plomb	0,03	g.
Eau distillée	15	ml.
Tampon tris 0,5 M de pH 6,7	10	ml.

Laver à l'eau distillée puis à l'eau acétique à 0,5 p. cent. Passer dans la solution de sulfure d'ammonium à 5 p. cent, laver à l'eau distillée. Déshydrater et monter en baume.

XIII. — ACTIVITE BETA-GLUCURONIDASIQUE

— Technique de SELIGMAN, TSOU, RUTENBURG et COHEN (482), avec postcouplage.

a) PRINCIPE :

La substance naphtolique libérée par hydrolyse enzymatique du substrat, se combine avec le diazonium de couplage pour donner un azoïque coloré et insoluble.

b) MODE OPÉRATOIRE :

Fixer dans le mélange formol-calcium à 6 p. cent pendant 2 heures à $+ 2^{\circ}$ C; incuber 22 à 24 heures à $+ 37^{\circ}$ C dans :

6-bromo-2-naphtyl- β -D glucuronide	0,03	g.
Alcool absolu (pour dissoudre)	5	ml.
Tampon phosphate-citrate de pH 4,95	20	ml.
Eau distillée	75	ml.

Laver à l'eau distillée. Passer dans la solution tamponnée de fast blue B à 0,1 p. cent (utiliser tampon phosphates 0,2 M de pH 7,5). Laver à l'eau distillée puis à l'eau acétique à 0,1 p. cent. Monter en glycérine.

XIV. — ACTIVITE LEUCINE AMINOPEPTIDASIQUE

— Techniques de NACHLAS, CRAWFORD et SELIGMAN (382); NACHLAS, FRIEDMAN et SELIGMAN (383).

a) PRINCIPE :

Le composé naphtholique libéré après hydrolyse enzymatique se combine avec le diazonium de couplage pour donner un azoïque coloré et insoluble.

b) MODE OPÉRATOIRE :

Fixer dans le mélange formol-calcium à 6 p. cent pendant 3 heures à + 2° C; incuber pendant 15 minutes à 2 heures à + 37° C dans :

L-leucyl- β -naphthylamide (8 mg/ml)	1	ml.
Tampon acétate 0,1 M pH 6,5	10	ml.
Chlorure de sodium 0,85 p. 100	8	ml.
Cyanure de potassium $2 \cdot 10^{-2}$ M	1	ml.
Fast blue B	0,01	g.

Rincer dans une solution de chlorure de sodium à 0,85 p. cent pendant 2 minutes. Passer dans une solution de sulfate de cuivre 0,1 M pendant 2 minutes. Rincer à l'aide de la solution de chlorure de sodium à 0,85 p. cent. Déshydrater et monter en baume.

RÉSULTATS

— *L'activité lactate déhydrogénasique* est localisée sur l'épithélium antérieur, avec accentuation sur les cellules basales et de la région moyenne; sur l'endothélium postérieur et sur les minces parties cytoplasmiques des cellules du stroma.

— *L'activité glucose-6-phosphate déhydrogénasique* présente une nette positivité sur l'épithélium antérieur. La réaction visualise de fins granules cytoplasmiques à prédominance périnucléaire.

— *L'activité succinate déhydrogénasique* est facilement décelable au niveau de la zone moyenne de l'épithélium antérieur; elle siège sur de nombreuses granulations cytoplasmiques.

— *Les activités diaphorasiqes, $NADH_2$ et $NADPH_2$ tétrazolium réductasiques* sont positives sur l'épithélium antérieur de la cornée, notamment sur les cellules des assises moyenne et basale. La réaction visualise des granules cytoplasmiques apparemment mitochondriaux.

— *Les activités α -naphthyl-acétate estérasique et 5-bromo-indoxyl-acétate estérasique* sont, en coïncidence, positives sur les couches profondes de l'épithélium antérieur.

— *L'activité pseudo-cholinestérasique* présente une réaction positive au niveau de l'épithélium antérieur, notamment dans sa partie basale; la réaction est également très nette dans la zone médio-postérieure du stroma et au niveau de l'endothélium postérieur.

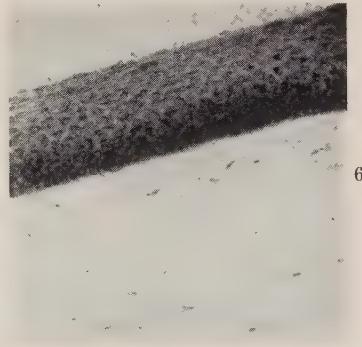
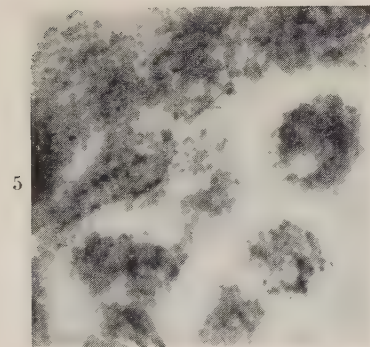
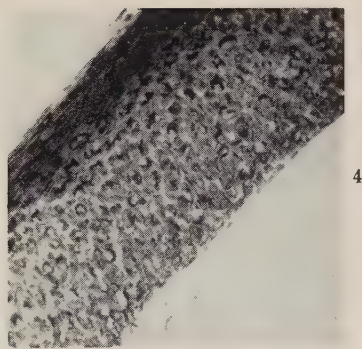
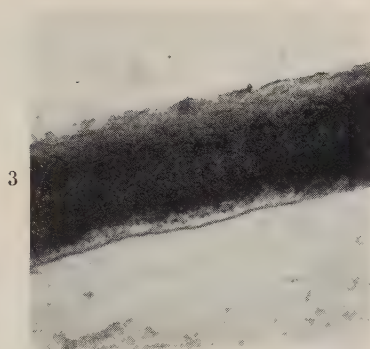
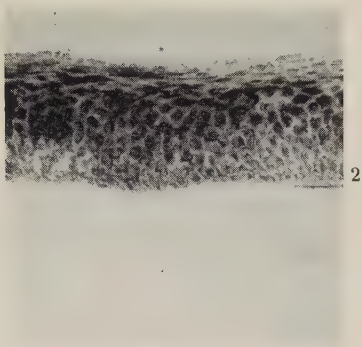
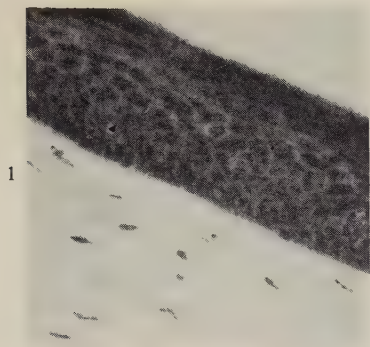
— *L'activité phosphatasique alcaline* est très forte au niveau de l'épithélium antérieur, notamment sur les membranes des cellules épithéliales.

— *L'activité phosphatasique acide* est positive sur l'épithélium antérieur, avec accentuation au niveau de ses couches superficielles; sur l'endothélium postérieur et sur quelques cellules juxta-épithéliales du stroma.

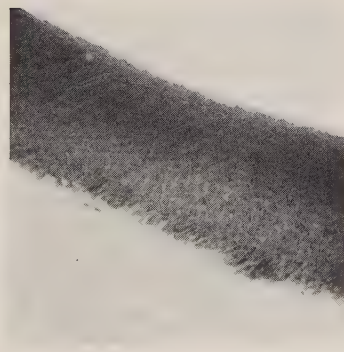
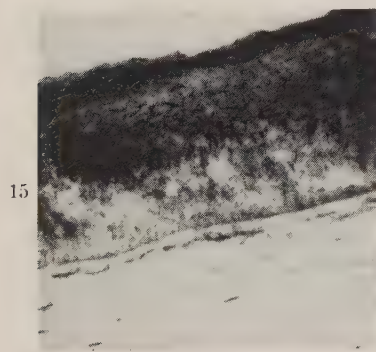
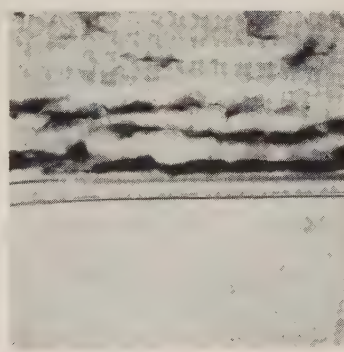
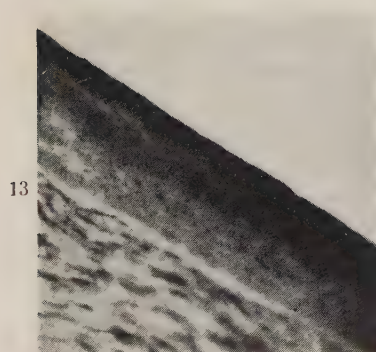
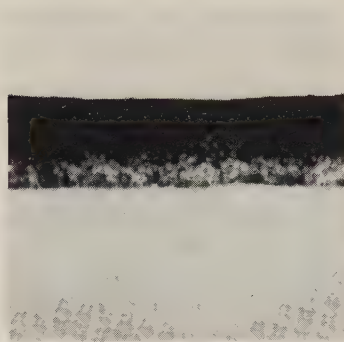
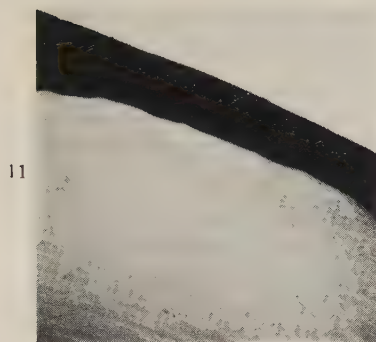
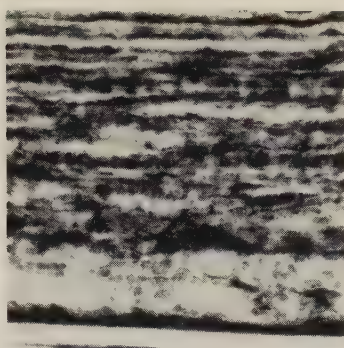
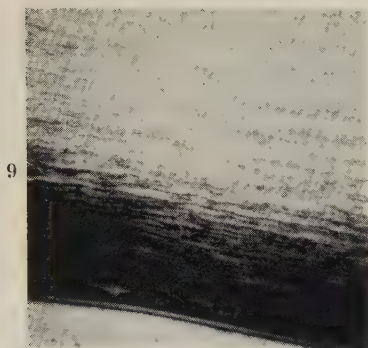
— *L'activité 5-nucléotidasique* est positive sur les couches les plus superficielles de l'épithélium antérieur; elle se révèle également très nette sur le cytoplasme des cellules conjonctives du stroma avec accentuation au niveau des cellules propres cornéennes sous-épithéliales antérieures ou juxta-mésothéliales postérieures.

— *L'activité nucléoside-triphosphatasique* se manifeste au niveau de l'épithélium antérieur, notamment sur les membranes intercellulaires dans les assises moyennes de l'épithélium.

Cliché 1 : Lactate déhydrogénase. — **Cliché 2** : Glucose-6-phosphate déhydrogénase. — **Cliché 3** : Succinate déhydrogénase. — **Cliché 4** : β -glucuronidase. — **Clichés 5 et 6** : Diaphorases (NADH_2 et NADPH_2 tétrazolium réductases). — **Clichés 7 et 8** : α -Naphtyl-acétate et 5-bromo-indoxyl-acétate estérases.



Clichés 9 et 10 : Pseudocholinestérase. — **Cliché 11 :** Phosphatase alcaline. — **Cliché 12 :** Phosphatase acide. — **Clichés 13 et 14 :** 5-Nucléotidase. — **Cliché 15 :** Nucléoside-triphosphatase. — **Cliché 16 :** Glucose-6-phosphatase.



— L'activité *glucose-6-phosphatasique* présente une faible réaction sur la zone moyenne de l'épithélium antérieur.

— L'activité β -*glucuronidasique*, négative pour des incubations courtes (4-6 heures), n'apparaît qu'après de longs temps d'incubation (22 heures) et présente une réaction positive sur l'épithélium antérieur.

— L'activité *leucine aminopeptidasique*, par contre, est positive sur tout le stroma cornéen, avec un maximum dans la moitié antérieure de ce stroma; elle est négative sur les épithéliums.

Sur le plan histochimique, les activités enzymatiques étudiées sont assez fortes pour être révélées nettement après des temps d'incubation courts, exception faite pour les activités pseudocholestinestérasique et β -glucuronidasique pour lesquelles les temps d'incubation atteignent respectivement 15 heures et 22 heures.

D'une façon générale, il est possible d'affirmer que l'épithélium antérieur est la structure cornéenne la plus riche en activités enzymatiques. Ces activités augmentent avec l'âge et sont plus intenses chez les animaux adultes que chez les veaux.

La localisation dans la cornée de certaines enzymes, peut se comparer avec celle retrouvée au niveau d'autres épithéliums ou de la peau. Ainsi (371) la phosphatase acide a un maximum d'activité sur les cellules épidermiques superficielles; les estérases sont localisées soit au niveau du corps muqueux de Malpighi, soit sur le *stratum granulosum*. La succinate déhydrogénase siège surtout sur le chondriome des cellules basales et du corps muqueux de l'épiderme. La leucine aminopeptidase est faible ou négative dans l'épiderme mais positive dans le derme, notamment chez l'adulte dans la couche papillaire.

DISCUSSION ET CONCLUSIONS GÉNÉRALES

De l'étude anatomique de la cornée, nous retiendrons simplement ici l'énumération des cinq couches qui sont d'avant en arrière: épithélium, membrane de Bowman, stroma, membrane de Descemet et endothélium, ainsi que la richesse du réseau nerveux et l'absence bien connue de toute vascularisation.

Au point de vue chimique, nous devons souligner que la cornée est essentiellement constituée par ordre décroissant d'importance pondérale, d'eau, de collagène, de mucopolysaccharides et de nombreux autres constituants organiques et inorganiques, dont l'importance métabolique dépasse de loin le faible pourcentage.

Les premiers travaux relatifs aux activités enzymatiques de la cornée remontent à une trentaine d'années environ et sont allés en se multipliant et en se précisant au fur et à mesure de l'amélioration des techniques. L'étude analytique de près de 600 publications nous a permis, dans la partie bibliographique de notre travail, de mettre en évidence au niveau de la cornée, une cinquantaine d'activités enzymatiques prospectées le plus souvent chez l'animal — Bœuf, Lapin, Chat, Rat — plus rarement chez l'Homme.

Parmi ces activités, nous relevons le nom de celles qui ont été signalées le plus fréquemment par les auteurs :

— *Oxydoréductases* : alcool, lactate, malate, citrate et isocitrate, glucose-6-phosphate, α -glycérophosphate, pyruvate, succinate, glutamate déhydrogénases; amino-acide oxydase, monoamine oxydase, histaminase; glutathion réductase, diaphorases, oxydase, cytochrome oxydase, indophénol oxydase; catalase, peroxydase.

— *Transférases* : méthyltransférase; choline acétylase; phosphorylase, uridine-5-diphosphoglucose transférase; aspartate amino et alanine amino-transférases; hexokinase; phénol sulfotransférase, kérato sulfotransférase.

— *Hydrolases* : lipase-aliestérase, cholinestérase; phosphatases alcaline et acide, 5-nucléotidase, glucose-6-phosphatase; nucléase; sulfatases; β -glucuronidase, β -galactosidase, β -glucosidase, hyaluronidase, peptidase, activité fibrinolytique; désaminase; adénosine triphosphatase, nucléoside phosphatase.

— *Lyases* : fructose diphosphate aldolase; anhydrase carbonique.

Dans la plupart des cas, ces activités sont relevées le plus souvent au niveau de l'épithélium et de l'endothélium cornéens, quelquefois au niveau du stroma, avec cependant un maximum d'intensité au niveau de la couche épithéliale.

Parmi ces activités, l'étude de quelques-unes d'entre elles a donné lieu à quelques remarques particulières ou à de plus larges développements. Ainsi il est possible de souligner, entre autres, parmi les *oxydoréductases*, l'activité très prononcée de la lactate déhydrogénase au niveau de l'épithélium cornéen chez le Lapin. En effet, le taux de cette enzyme est 5 à 10 fois plus important que celui relevé dans les autres tissus et surpasse de très loin celui détecté chez le Chat ou le Rat.

Parmi les *transférases*, il est à noter une activité phosphorylase plus prononcée dans la région limbique de la cornée; ceci est probablement en relation avec la proximité des vaisseaux sanguins du cercle périkeratique. De plus, la cornée possède une activité aspartate amino-transférase très supérieure à l'activité alanine amino-transférase; ce fait est également constaté dans d'autres milieux oculaires, en particulier les humeurs aqueuse et vitrée et la rétine.

Parmi les *hydrolases*, l'étude de la cholinestérase cornéenne, chez le Lapin, a permis de noter que la concentration de l'épithélium en enzyme est seulement réduite, mais non supprimée, par résection des nerfs. Cela démontre que l'acétylcholine est un composant des cellules épithéliales et que sa présence n'est pas en rapport absolu avec la richesse de l'innervation cornéenne. En outre, l'attention des auteurs a été longuement retenue par l'étude des phosphatases chez de nombreuses espèces animales. La phosphatase alcaline en particulier, a été décelée au niveau des différentes couches de la cornée et à des taux bien supérieurs à ceux de la phosphatase acide, qui bien souvent ne se révèle qu'à l'état de traces.

La mise en évidence dans la cornée de Lapin, d'un système enzymatique hyaluronidase-acide hyaluronique a permis un essai d'interprétation de la pathogénie de certaines kératopathies. Une activité lysozymique, rejoignant celle des larmes, permet de constater dans la cornée de l'Homme et de différentes espèces animales, le rapport qui existe entre cette activité et l'immunité naturelle envers l'infection herpétique.

Parmi les *lyases*, l'anhydrase carbonique occupe une place importante. L'étude de la respiration cornéenne permet de supposer que la présence de cette enzyme dans la cornée est en relation possible avec la disparition de CO_2 dans ce même tissu.

Il apparaît que cet équipement enzymatique assez complet joue un rôle important dans le métabolisme et dans les fonctions physiologiques de la cornée.

En ce qui concerne l'activité respiratoire, il est possible de constater que les valeurs de QO_2 trouvées pour la cornée entière, fraîchement excisée, peuvent varier selon les espèces de 0,5 à 1,9.

Les différents chiffres relevés dans la littérature ne semblent pas toujours concorder, cela prouve combien est sujet à discussions, même à l'heure actuelle, le problème de la respiration cornéenne.

La cornée présente un métabolisme glucidique actif, variable cependant avec les espèces. Au niveau de l'épithélium, la dégradation du glucose semble emprunter pour la plus grande part, une voie anaérobie; la cornée ne peut guère oxyder l'acide pyruvique et accumule facilement l'acide lactique. Le shunt des hexoses-monophosphates joue également un rôle important au niveau de l'épithélium alors que le cycle de Krebs semble fonctionner au ralenti. Un anabolisme glucidique a été étudié et semble être positif dans la synthèse des mucopolysaccharides. Le métabolisme lipidique paraît assez restreint et l'intensité du métabolisme protidique est surtout marquée au niveau des cellules épithéliales et endothéliales.

Une activité métabolique régulière assure un degré d'hydratation défini de la substance propre cornéenne et ceci est la condition essentielle au maintien de la transparence, qualité primordiale de la cornée, qui conditionne toutes ses fonctions optiques.

Si le mécanisme intime de ce phénomène est encore loin d'être élucidé, il est cependant possible d'avancer que l'énergie indispensable au bon fonctionnement de la « pompe à eau », décrite par certains auteurs, est fournie essentiellement par la dégradation des glucides.

Nos recherches expérimentales effectuées sur plus de 6.000 yeux de bovidés, classés selon l'âge, ont permis de déceler près de trente activités enzymatiques au niveau de la cornée.

Les résultats obtenus par *voie biochimique*, en ne retenant que ceux correspondant à une seule dilution et à un seul temps d'incubation, sont condensés ci-dessous :

Activité lactate déhydrogénasique (surnageants d'homogénats au 1/200° : 31 à 35 p. cent d'activité, après 15 minutes d'incubation).

Activité α -hydroxybutyrate déhydrogénasique (surnageants d'homogénats au 1/25° : 27 à 34 p. cent d'activité, après 15 minutes d'incubation).

Activité glucose - 6 - phosphate déhydrogénasique (surnageants d'homogénats au 1/25° : 22 à 23 p. cent d'activité, après 5 minutes d'incubation).

Activité catalasique (surnageants d'homogénats au 1/100° : 25 à 28 p. cent d'activité, après 15 minutes d'incubation).

Activité aspartate amino-transférasique (surnageants d'homogénats au 1/5° : 12 à 14 p. cent d'activité, après 30 minutes d'incubation), 3 à 4 fois plus élevée que l'activité alanine amino-transférasique qui se révèle très faible.

Activité lipasique-aliestérasique (surnageants d'homogénats au $1/10^e$: 32 à 37 p. cent d'activité, après 60 minutes d'incubation).

Activité pseudocholinestérasique (surnageants d'homogénats au $1/5^e$: 25 à 30 p. cent d'activité, après 60 minutes d'incubation).

Activité salicylestérasique [aspirine estérasique] (surnageants d'homogénats au $1/5^e$: 17 à 18 p. cent d'activité, après 2 heures d'incubation).

Activité phosphatasique alcaline (surnageants d'homogénats au $1/25^e$: 32 à 35 p. cent d'activité, après 60 minutes d'incubation), environ 3 fois supérieure à l'activité phosphatasique acide qui se révèle faible.

Activité 5-nucléotidasique (surnageants d'homogénats au $1/5^e$: 19 à 27 p. cent d'activité après 60 minutes d'incubation).

Activité glucose-6-phosphatasique (surnageants d'homogénats au $1/5^e$: 8 à 10 p. cent d'activité, après 12 heures d'incubation).

Activité amylasique [pouvoir dextrinant] (surnageants d'homogénats au $1/25^e$: 27 à 32 p. cent d'activité, après 15 minutes d'incubation).

Activité β -glucuronidasique (surnageants d'homogénats au $1/10^e$: 20 à 23 p. cent d'activité, après 6 heures d'incubation).

Activité leucine aminopeptidasique (surnageants d'homogénats au $1/200^e$: 30 à 32 p. cent d'activité, après 30 minutes d'incubation).

Activité adénosine triphosphatasique (surnageants d'homogénats au $1/5^e$: 10 à 12 p. cent d'activité après 2 heures d'incubation).

Activité fructose diphosphate aldolasique (surnageants d'homogénats au $1/10^e$: 31 à 38 p. cent d'activité, après deux heures d'incubation).

Activité glucosephosphate isomérasique (surnageants d'homogénats au $1/100^e$: 20 à 22 p. cent d'activité, après 5 minutes d'incubation).

En général, les résultats exposés ci-dessus permettent de constater que ces activités augmentent légèrement avec l'âge et sont plus intenses chez les animaux adultes que chez les veaux.

Sur le plan *histochimique*, les activités étudiées sont assez marquées pour être révélées nettement après des temps d'incubation courts, exception faite pour les activités pseudocholinestérasique et β -glucuronidasique pour lesquelles les temps d'incubation atteignent respectivement 15 heures et 22 heures.

Cette étude a permis également de confirmer que l'*épithélium antérieur* est la structure cornéenne la plus riche en activités enzymatiques. En effet, il a été possible de localiser à son niveau les

activités suivantes : lactate, glucose-6-phosphate, succinate déhydrogénasiques, NADH_2 et NADPH_2 tétrazolium réductasiques (diaphorases), α -naphtyl-acétate et 5-bromo-indoxyl-acétate estérasiques, pseudocholinestérasique, phosphatasiques. 5 nucléotidasique, nucléoside-triphosphatasique, glucose-6-phosphatasique, β -glucuronidasique.

Le *stroma* présente aussi une réaction positive, d'intensité variable cependant, pour les activités lactate déhydrogénasique, pseudocholinestérasique, phosphatasique acide, 5-nucléotidasique et leucine aminopeptidasique.

Quant à l'*endothélium*, seules les activités lactate déhydrogénasique, pseudocholinestérasique et phosphatasique acide ont pu être mises en évidence à son niveau.

D'une façon générale, les activités décelées demeurent inférieures à celles obtenues dans les mêmes conditions expérimentales, au niveau de la rétine, exception faite pour les activités glucose-6-phosphate déhydrogénasique, phosphatasique alcaline et β -glucuronidasique. De plus, si nous nous rapportons à d'autres tissus, nous voyons que les activités enzymatiques de la cornée sont bien loin d'atteindre celles d'organes richement vascularisés, tels que le foie ou le rein. Par contre, ces activités se révèlent très supérieures à celles constatées dans les humeurs de l'œil.

Si certains auteurs, il y a une quinzaine d'années, ont pu faire état de la lenteur du métabolisme cornéen, des travaux plus récents, ainsi que ceux effectués par nous-mêmes, permettent d'affirmer que la cornée jouit d'un métabolisme relativement intense, très loin d'être négligeable.

Il est certain qu'une connaissance plus approfondie des processus métaboliques au niveau de la cornée permettrait peut-être d'améliorer certaines affections oculaires imputables à des perturbations de ces métabolismes. Cependant « l'enzymo-pathologie n'est encore qu'à ses débuts et celle des milieux oculaires n'a pas franchi le stade de l'expérimentation ».

Vu :

Clermont-Ferrand, le 8 mars 1967.

Le Président du Jury :

G. DASTUGUE.

Vu et Approuvé :

Clermont-Ferrand, le 9 mars 1967.

*Le Doyen de la Faculté Mixte
de Médecine et de Pharmacie :*

G. MEYNIEL.

Vu et permis d'imprimer n° 7/67

Clermont-Ferrand, le 9 mars 1967.

Le Recteur de l'Académie,

Président du Conseil de l'Université :

E. LAPALUS.

BIBLIOGRAPHIE

1. ABDERHALDEN E., HANSEN H. — Ueber das Vorkommen von Polypeptidasen in der Linse, in der Hornhaut, im Glaskörper und im kammerwasser des Auges. — *Fermentforsch.*, 1938, 16, 67-80.
2. AKIYA S., ISHIGURO K., KANEKO R. — Intracellular distribution of phosphatase in the retina. — *Acta Soc. Ophthalm. Jap.*, 1958, 62, 979-989.
3. ALAJMO A. — Rhodanese activity of crystalline lens and retina. — *G. Ital. Oftal.*, 1957, 10, 284-289.
4. ALPHEN G.W. Van. — Acetylcholine synthesis in the corneal epithelium. — *Arch. Ophthalm.*, 1957, 58, 449-451.
5. ALIBERT A., MALET P., BASTIDE P., TURCHINI J.P., DASTUGUE G. — Activité adénosine triphosphatasique dans le rein de souris au cours de l'intoxication expérimentale au nitrate d'uranyle. — 83^e Cong. A.F.A.S., Lille, 6-11 juillet 1964.
6. ALIBERT A., MALET P., BASTIDE P., TURCHINI J.P., DASTUGUE G. — Activités aliestérasiques et lipasiques dans le rein de souris au cours de l'intoxication expérimentale au nitrate d'uranyle. — *J. Physiol.*, 1964, 56, 272.
7. ALIBERT A., RIGAL M.Th., BASTIDE P., TURCHINI J.P., DASTUGUE G. — Examen de quelques activités enzymatiques dans le foie et le rein de souris avant et après administration de tétrachlorure de carbone ou de nitrate d'uranyle. — *C. R. Soc. Biol.*, 1963, 157, 1439-1443.
8. ALIBERT A., RIGAL M.Th., MALET P., BASTIDE P., TURCHINI J.P., DASTUGUE G. — Activités cholinestérasiques dans le foie et le rein de souris au cours de l'intoxication expérimentale au nitrate d'uranyle. — *Ann. Biol. Clin.*, 1964, 22, 1075-1081.
9. ALIBERT A., RIGAL M.Th., MALET P., BASTIDE P., TURCHINI J.P., DASTUGUE G. — Activité 5-nucléotidasique dans le foie et le rein de souris au cours de l'intoxication expérimentale au tétrachlorure de carbone ou au nitrate d'uranyle. — *J. Physiol.*, 1964, 56, 526-527.
10. ALLEN R.A., FRIEDENWALD J.S. — Distribution of substrate-specific alkaline phosphatases in ocular tissues. — *Arch. Ophthalm.*, 1953, 50, 671-684.
11. AMBROSIO A. — Sul comportamento dell'attività carboanidrasica della cornea e dell' retina nel corso di un processo infiammatorio dell'uvea. — *Boll. oculist.*, 1956, 35, 445-450.
12. AMSLER M., VERREY F., HUBER A. — L'humeur aqueuse et ses fonctions. — *Masson éd., Paris*, 1955.

13. ANSETH A. — Studies on corneal polysaccharides. III. - Topographic and comparative biochemistry. — *Exp. Eye Res.*, 1961, 1, 106-115.
14. ANSETH A., DOHLMAN C.H. — Influence of the intraocular pressure on hydration of the corneal stroma. — *Acta Ophthal., Kbh.*, 1957, 35, 85-90.
15. ANSETH A., LAURENT T.C. — Studies on corneal polysaccharides. I. - Separation. — *Exp. Eye Res.*, 1961, 1, 25-38.
16. ANSETH A., LAURENT T.C. — Polysaccharides in normal and pathologic corneas. — *Invest. Ophthal.*, 1962, 1, n° 2, 195-201.
17. ANTELOVA D.N., SECHENOV I.M. — A study of retinal metabolism. — *Vest. Oftal.*, 1963, 1, 3-10.
18. ARMSTRONG P. — Cholinesterase in the Amphibian Sphincter Pupillae. — *J. Cell. Comp. Physiol.*, 1942, 20, 47-53.
19. ARVY L. — La carboanhydrase. — *Biologie médicale*, 1957, 46, 2, 407.
20. AUGUSTINSSON K.B. — Estérasas du sang de *Spirographis*. — *Bull. Soc. Chimie biol.*, 1949, 31, 736-739.
21. AURELL G., HOLMGREN H. — On the metachromatic staining of the corneal tissue and some observations on its transparency. — *Acta Ophthal., Kbh.*, 1953, 31, 1-27.
22. AURICCHIO G. — Attività istaminasica dei tessuti oculari. — *Boll. Soc. Ital. Biol. Sper.*, 1955, 31, 1508-1509.
23. AURICCHIO G., VINCENTIIS M. — Sulla capacità deaminante dei tessuti oculari. — *Boll. Soc. Ital. Biol. Sper.*, 1949, 25, 31-32.
24. BAHR VON G. — Deturgescence of the living cornea. — *Acta Ophthal. Kbh.*, 1941, 19, 125.
25. BAKKER A. — Beiträge zur Kenntniss einiger merkwürdiger Pupillenbewegungen. — *Graefes Arch. Ophthal.*, 1938, 139, 273-277.
26. BAKKER A. — Ueber Kohlensäureanhydrase in normalen und kataraktösen Linsen. — *Graefes Arch. Ophthal.*, 1939, 140, 543-552.
27. BAKKER A. — Der Kohlensäureanhydrasegehalt verschiedener Augengewebe einiger Säugetiere. — *Ophthalmologica, Basel*, 1941, 102, 351-360.
28. BAKKER A. — Some remarks on the respiration of the cornea in the albino rat. — *Brit. J. Ophthal.*, 1947, 31, 100-108.
29. BAKKER A. — Carbonic anhydrase and cataracta lentis. — *Brit. J. Ophthal.*, 1948, 32, 910-912.
30. BALLADE C., OGIER R., FRAUX J., BASTIDE P., DASTUGUE G. — Activités enzymatiques au niveau du thymus d'agneau. — *C. R. Soc. Biol.*, 1964, 158, 536-539.

31. BALLINTINE E.J., MAREN T.H. — Carbonic anhydrase activity and the distribution of Diamox in the rabbit eye. — *Amer. J. Ophthal.*, 1955, 40, 148-155.
32. BARKA T., ANDERSON P.J. — Histochemical methods for acid phosphatase using hexazonium pararosanilin as couples. — *J. Histochem. Cytochem.*, 1962, 10, 741-753.
33. BASTIDE P. — Contribution à l'étude de la richesse enzymatique des humeurs et des tissus chez les *Helix*. — *Thèse Doct. Etat pharmacie, Strasbourg*, 1954, de Bussac éd.
34. BASTIDE P. — Activités enzymatiques dans l'humeur aqueuse et le corps vitré. — *Thèse Doct. Etat médecine, Clermont-Ferrand*, 1961, de Bussac éd.
35. BASTIDE P. — Activités enzymatiques dans l'humeur aqueuse et le corps vitré. — *Biol. Méd.*, 1962, 51, 386-427.
36. BASTIDE J., BASTIDE P., MALET P., TURCHINI J.P., DASTUGUE G. — Activités aspirine-estérasique et β -glucuronidasique dans les reins de rat et de souris au cours de l'intoxication expérimentale au nitrate d'uranyle. — *Bull. Trav. Soc. Pharm., Lyon*, 1965, 9, 139-150.
37. BASTIDE P., BASTIDE J., MALET P., TURCHINI J.P., DASTUGUE G. — Activité glucose-6-phosphatasique dans les reins de rat et de souris au cours de l'intoxication expérimentale au nitrate d'uranyle. — *C. R. Soc. Biol.*, 1965, 159, 689-692.
38. BASTIDE J., BASTIDE P., MALET P., TURCHINI J.P., DASTUGUE G. — Activités α -hydroxybutyro-déshydrogénasique et lactico-déshydrogénasique dans les reins de rat et de souris au cours de l'intoxication expérimentale au nitrate d'uranyle. — *Journées de Toxicologie, Toulouse*, 3 juin 1965; *Ann. Biol. Clin.*, 1966, 24, 745-755.
39. BASTIDE P., BAUDON J., MEUNIER S., DASTUGUE G. — Activité leucine aminopeptidasique dans le placenta, le sang maternel et celui du nouveau-né. — *Ann. Biol. Clin.*, 1961, 19, 459-462.
40. BASTIDE P., BAUDON J., MEUNIER S., DASTUGUE G. — Activité phosphohexose isomérasique dans le placenta, le sang maternel et celui du nouveau-né. — *Path. Biol.*, 1962, 10, 445-446.
41. BASTIDE P., DASTUGUE G. — De l'hydrolyse enzymatique comparée de quelques esters salicylés en présence d'hémolymphe d'*Helix pomatia* (L.) et de sérum humain. — *Trav. Soc. Pharm. Montpellier*, 1953, 13, 4, 178-181.
42. BASTIDE P., DASTUGUE G. — Sur l'hydrolyse enzymatique de quelques esters salicylés par les humeurs et les organes d'*Helix pomatia* (L.) : Acide acétylsalicylique et acétylsalicylamide. — *Thérapie*, 1954, 9, 360-366.
43. BASTIDE P., JACQUEMET L., SAINT-MARC J., DASTUGUE G. — Activité phosphohexose isomérasique du sang humain au cours de la conservation. — *Rev. Méd. Tours*, 1962, 3, 551-554.

44. BASTIDE P., MEUNIER M.Th., DASTUGUE G. — De quelques activités enzymatiques de la rétine chez les bovidés (transaminases et créatine-phosphokinase). — *C. R. Soc. Biol.*, 1962, 156, 1627-1630.
45. BASTIDE P., SOULA M.C., TRONCHE P., DASTUGUE G. — Activités glutaminasique I et α -hydroxybutyrate déshydrogénasique de la rétine et des humeurs chez les bovidés. — *C. R. Soc. Biol.*, 1966, 160 (sous presse).
46. BASTIDE P., TRONCHE P., DASTUGUE G. — Activités glucose-6-phosphatasique et glucose-6-phosphate déshydrogénasique de la rétine et des humeurs chez les bovidés. — *C. R. Soc. Biol.*, 1966, 160, 92-95.
47. BASTIDE P., TRONCHE P., DASTUGUE G. — *Communications personnelles*, 1967 (sous presse).
48. BASTIDE P., TRONCHE P., MEUNIER M.Th., BALLADE Ch., DASTUGUE G. — Activités enzymatiques au niveau de l'humeur aqueuse et du corps vitré chez les bovidés (leucine-aminopeptidase, transaminases, phosphohexose isomérase, aldolase). — *11^e Cong. Soc. Pharm. Sud-Loire*, Toulouse, 30 juin 1961; *Toulouse pharmaceutique*, 1961, 8, 1-2, 96-104.
49. BASTIDE P., TRONCHE P., MEUNIER M.Th., DASTUGUE G. — Activités enzymatiques de la rétine chez les bovidés (aspirine-estérase, aldolase, fumarase, aconitase). — *Rev. Méd. Tours*, 1964, 5, 297-303.
50. BASTIDE P., TRONCHE P., SOULA M.C., DASTUGUE G. — Etude des activités enzymatiques de la rétine et des humeurs de l'œil chez les bovidés (phosphatases acide et alcaline, 5-nucléotidase, β -glucuronidase). — *Path. Biol.*, 1967, 15 (sous presse).
51. BAUDON J., BASTIDE P., CARCASSIN M., DASTUGUE G. — Activité β -glucuronidasique dans le placenta humain, les sangs de la mère et du nouveau-né. — *Path. Biol.*, 1960, 8, 487-492.
52. BAUER F. — Phosphatase aktivität der vascularisierten regenerierenden Hornhaut. — *Graefes Arch. Ophthalm.*, 1963, 165, 501-505.
53. BAUER F. — The dehydrogenase activity of the pathological cornea. — *Graefes Arch. Ophthalm.*, 1963, 165, 506-509.
54. BAUM J.L. — A histochemical study of corneal respiratory enzymes. — *Arch. Ophthalm.*, 1963, 70, 59-68.
55. BAZIN S., DELAUNAY A. — Protéines non fibrillaires de la cornée. — *Rev. fr. ét. clin. biol.*, 1961, 6, 297-301.
56. BECKER B., FRIEDENWALD J.S. — The histochemical localization of glucuronidase in ocular tissues and salivary glands. — *Amer. J. Ophthalm.*, 1950, 33, 673-674.
57. BELLONE G., FARALDI I. — Attività adenosintrifosfatase sodio potassio - attivata nei tessuti oculari e sua inibizione da parte della digitalina. — *Rass. ital. ottal.*, 1964, 31, 209-219.

58. BERARDINIS E. de — Ricerche sulla succino-deidrogenasi nei tessuti oculari. — *Boll. Soc. Ital. Biol. Sper.*, 1951, 27, 1337-1339.
59. BERARDINIS E. de — Ricerche istochemiche e biochemiche sulle deidrogenasi dei tessuti oculari mediante il trifenil-tetrazolio. — *Boll. Soc. Ital. Biol. Sper.*, 1953, 29, 63-65.
60. BERARDINIS E. de — Sull' ossidazione dell' acido lattico ed acido piruvico e di lacuni componenti del ciclo citrico in omogenati di epitelio corneale. — *Experientia*, 1954, 10, 312-314.
61. BERARDINIS E. de — Studi sulle deidrogenasi dei tessuti oculari. — *Ann. Ottal.*, 1958, 84, 312-331.
62. BERARDINIS E. de — Analyse chromatographique des acides aminés libres de l'épithélium de la cornée et de la rétine chez le bœuf. — *Ann. Oculist., Paris*, 1959, 192, 180-190.
63. BERARDINIS E. de — The presence of a direct oxidative cycle in the retina. — *Ophthalmologica, Basel*, 1959, 138, 419-422.
64. BERARDINIS E. de — Hexokinase activity of the ox retina. — *Ophthalmologica, Basel*, 1960, 140, 193-200.
65. BERARDINIS E. de — Determination of cytochrome C and activity of cytochromoxydase in the retina of the ox. — *Acta. Ophthal. Kbh.*, 1960, 38, 448-451.
66. BERARDINIS E. de — Séparation du phosphore acido-soluble dans l'épithélium cornéen de bovins. Etude chimique et chromatographique. — *Ann. oculist., Paris*, 1961, 194, 38-44.
67. BERARDINIS E. de, VINCENTIIS M. de. — Contributo sperimentale allo studio del ricambio del tessuto corneale; sul metabolismo lipidico della cornea. — *Rass. ital. ottal.*, 1950, 19, 164-195.
68. BERGER L., BROIDA D. — The colorimetric determination of lactico-dehydrase in serum or other fluids. — *Sigma Tech. Bull.*, 1958, 500, 165-168.
69. BERGGREN L. — Histochemical study of the anterior segment of the eye in Gold Id, Chicken, Rabbit and Man, with special regard to the angle of the anterior chamber. — *Acta Soc. Med. Upsalien.*, 1957, 62, 157-175.
70. BERKOW J.W., PATZ A. — Histochemistry of the retina. — *Arch. Ophthal.*, 1961, 65, 820-827, 828-831.
71. BERKOW J.W., PATZ A. — Developmental histochemistry of the rat eye. — *Invest. Ophthal.*, 1964, 3, 1, 22-33.
72. BESSEY O.A., LOWRY O.H., BROCK M.J. — A method for the rapid determination of alkaline phosphatase with five cubic millimeters of serum. — *J. Biol. Chem.*, 1946, 164, 321-329.
73. BODANSKY O. — Serum phosphohexose isomerase in cancer. Method of determination and establishment of range of normal value. — *Cancer*, 1954, 7, 1191-1199.

74. BODANSKY O. — Enzymes in tumor growth with special referente to serum enzymes in cancer, in *Enzymes in health and diseases* by Greenberg D.M., Harper H.A., Ch. Thomas ed., Springfield, Ill., 1960, 13, 269-330.
75. BONAVITA V., PONTE F., AMORE G. — Neurochemical studies on the inherited retinal degeneration of the Rat. Lactate dehydrogenase in the developing retina. — *Vision Res.*, 1963, 3, 271-280.
76. BONAVOLONTA A. — Influenze dell' attivita respiratoria del cristallino sull' ossigeno dell' umore acqueo. — *Arch. Ottal.*, 1953, 57, 167-176.
77. BONAVOLONTA A. — Sull' attivita transaminasica dei tessuti e liquidi oculari. — *G. Ital. Oftal.*, 1958, 11, 337-344.
78. BONAVOLONTA G., BERARDINIS E. de — Osservazioni in vivo dell' attivita deidrogenasica dei tessuti oculari. — *Boll. Soc. Ital. Biol. Sper.*, 1954, 30, 76-78.
79. BONAVOLONTA A., TESTA M. — Sull' attivita transaminasica del retina in conditions of light and of darkness. — *G. Ital. Oftal.*, 1960, 13, 171-178.
80. BONTING S.L., CARAVAGGIO L.L., HAWKINS N.M. — Studies on sodium-potassium activated adenosine-triphosphatase. Its role in cation transport in the lens of cat, calf and rabbit. — *Arch. Biochem.*, 1963, 101, 47-55.
81. BOTTINO C. — La citocromossidasi retinica e la curva di adattamento dopo carico di vitamina B₂. — *Ann. Ottal.*, 1952, 78, 491-495.
82. BRATTON A.C., MARSHALL E.K. — New coupling component for sulfanilamide determination. — *J. Biol. Chem.*, 1939, 128, 537.
83. BRUCKE H., HELLAUER H., UNRATH K. — Azetylcholin und Aneurinegehalt der Hornhaut und seine Beziehungen zur Nervenversorgung. — *Ophthalmologica, Basel*, 1949, 117, 19-35.
84. BRÜCKNER R. — Augen und cholinesterase. — *Ophthalmologica, Basel*, 1943, 105, 37.
85. BURN J.H., PHILPOT F.J., TRENDLENBURG U. — Effects of denervation on enzymes in iris and blood vessels. — *Brit. J. Pharmacol.*, 1954, 9, 423-428.
86. CABAUD P.G., WROBLEWSKY F. — Colorimetric measurement of lactico dehydrase activity of body fluids. — *Ann. J. Clin. Path.*, 1958, 30, 234-238.
87. CALABRIA G.A., ORZALESI N. — Carbohydrate metabolisme of the retina. Glucose-6-phosphate dehydrogenase and 6-phosphogluconate dehydrogenase activities. — *Boll. Soc. Ital. Biol. Sper.*, 1964, 40, 1671-1676.
88. CALMETTE L., DEODATI F., PLANEL H., BEC P. — Etude histologique et histochimique de l'épithélium antérieur de la cornée et de ses basales. — *Arch. Ophtal. Paris*, 1956, 16, 5, 481-506.

89. CAMERON E., COLE D.F. — Succinic dehydrogenase in the Rabbit ciliary epithelium. — *Exp. Eye Res.*, 1963, 2, 25-27.
90. CAMPBELL D.M. — Determination of 5-nucleotidase in blood serum. — *Biochem. J.*, 1962, 82, 34.
91. CAPURRO S., ZACCHEO D., VIALE G. — Ricerche istochimiche sulla attività colinesterasica nella retina di rettili. — *Boll. Soc. Ital. Biol. Sper.*, 1959, 35, 609-610.
92. CAPURRO S., ZACCHEO D., VIALE G. — Studio dell'attività colinesterasica nella retina in rapporto al riposo visivo e agli stimoli luminosi. — *Boll. Soc. Ital. Biol. Sper.*, 1959, 35, 611-613.
93. CARMICHAEL P.L., HAMBLIN C., GREEN H., LEOPOLD I.M. — Evaluation of histochemical techniques for carbonic anhydrase in ocular tissues. — *Arch. Ophthalm.*, 1957, 58, 169-173.
94. CASTELLANI A.A., ZONTA L., PEDRINI V. et DE LUGA L. — Purification and analysis of a keratosulfate peptide from beef cornea. — *Ital. J. Biochem.*, 1965, 14, 185-189.
95. CENTANNI L. — Prime ricerche sperimentali sull'attività mono- β -glucuronidasi in tessuti ed umori oculari. — *Ann. Otol. Clin. ocul.*, 1956, 82, 2, 49-60.
96. CHAMBON A. — Contribution à l'étude critique et expérimentale de la β -glucuronidase. — *Thèse Doct. Univ. Pharmacie*, Clermont-Ferrand, 1959.
97. CHERNOVA A.A. — The content of glycogen and the rate of respiration in cornea burned by acid. — *Vopr. Med. Khim.*, 1964, 10, 367-369.
98. CHICALO I. — Carbonic anhydrase of the eye tissues and of the cerebral hemispheres of rabbits following tissue transplantation. — *Oftalmol. Zhur.*, 1956, 2, 57-71.
99. CIUSA W., BARBIROLI G.C. — Processi di trasmetilazione nella lente cristallina, nel sangue, nel fegato e nel rene di bue, di coniglio e di ratto. — *Acta. vitamin.*, 1963, 17, 157-166.
100. CIUSA W., CRISTINI G., GARUTTI M.A. — Nikotinsäuremetabolismus im der Augenlinse, im Kammerwasser und im Glaskörper. — *Klin. Mbl Augenheilk.*, 1957, 130, 488-491.
101. COGAN D.G. — Applied anatomy and physiology of the cornea. — *Trans. Amer. Acad. Ophthalm. Otolaryng.*, 1951, 329-359.
102. COGAN D.G., KINSEY V.E. — The cornea; physiologic aspects. — *Arch. Ophthalm.*, 1942, 28, 661-669.
103. COGAN D.G., KINSEY V.E. — Physiologic studies on the cornea. — *Science*, 1942, 95, 607-608.
104. COGAN D.G., KUWABARA T. — Tetrazolium studies on the retina. Distribution of reductase in ocular tissues. — *J. Histochem. Cytochem.*, 1960, 8, 380-384.
105. COLE D.F. — Utilisation of carbohydrate metabolites in the rabbit ciliary epithelium. — *Exp. Eye Res.*, 1963, 2, 284-295.

106. COLE D.F. — Location of ouabain sensitive adenosine-triphosphate in ciliary epithelium. — *Exp. Eye Res.*, 1964, 3, 72-75.
107. COMFORT M.W., OSTERBERG A.E. — Serum amylase and serum lipase in the diagnosis of disease of the pancreas. — *Med. Clin. North. Amer.*, 1940, 24, 1137.
108. CONCILIIUS U. de — Insulinase in the eye liquids and tissues. *Boll. oculist.*, 1956, 35, 112-121.
109. CONCILIIUS U. de — Attivita catalasica nei tessuti e nei liquidi oculari. — *Arch. Ottal.*, 1957, 61, 321-339.
110. CONCILIIUS U. de — La transulforasi e la transulforasi S nei liquidi oculari. — *Arch. Ottal.*, 1957, 61, 455-459.
111. COTLIER E. — Histochemical localization of tetrazolium linked dehydrogenases in the lens epithelium of the rabbit. — *Invest. Ophthalm.*, 1962, 1, 428.
112. COURTOIS J.E., PERLES R. — *Précis de Chimie Biologique*, tomes I et II, 1964-1965, Masson éd., Paris.
113. DANIELE S. — Il glutatione dei tessuti oculari. — *Ann. Ottal.*, 1961, 87, 51-58.
114. DARDENNE U., DRECHSLER G. — Lactic Acid dehydrogenase activity in animal and human eye - lenses. — *Arch. Ophthalm.*, 1961, 164, 156-162.
115. DASTUGUE G., BALLADE Ch., BASTIDE P. — Activités leucine-aminopeptidasique, lactico déhydrasique et phosphohexose-isomérasiqque de la rétine chez les bovidés. — *C. R. Soc. Biol.*, 1963, 157, 3, 540-543.
116. DASTUGUE G., BASTIDE P., DUBIEF V. — Sur la présence d'aldolase chez *Helix pomatia* et sa répartition comparée chez quelques espèces animales. — *Bull. Soc. Pharm., Bordeaux*, 1955, 94, 203-208.
117. DASTUGUE G., BASTIDE P., DUBIEF V. — Activité catalasique comparée chez quelques espèces animales. — *Bull. Soc. Pharm. Marseille*, 1956, 5, 153-158.
118. DASTUGUE G., BASTIDE P., DUBIEF V. — Répartition érythroplasmatiche de l'aldolase chez quelques espèces animales. — *Trav. Soc. Pharm. Montpellier*, 1956, 16, 196-199.
119. DASTUGUE G., BASTIDE P., PLAT P.M. — Equipement enzymatique des plaquettes sanguines. — *Ann. Biol. Clin.*, 1964, 22, 227-324.
120. DASTUGUE G., BASTIDE P., PLAT P.M., LAPORTE J. — De la répartition de quelques activités enzymatiques au niveau des différents constituants du sang de cheval. — *C. R. Soc. Biol.*, 1964, 158, 1517-1520.
121. DASTUGUE G., BAUDON J., BASTIDE P., CARCASSIN M. — Activités transaminasiques dans le placenta, le sang maternel et celui du nouveau-né. — *Ann. Biol. Clin.*, 1959, 17, 435-439.

122. DASTUGUE G., BAUDON J., BASTIDE P., CARCASSIN M., REBIERE J.P. — Hydrolyse enzymatique comparée de quelques esters salicylés dans le placenta, le sang maternel et celui du nouveau-né. — *Thérapie*, 1960, 15, 715-722.
123. DASTUGUE G., BAUDON J., BASTIDE P., REBIERE J.P. — Activité adénosine triphosphatasique du placenta et des sangs de la mère et du nouveau-né. — *Trav. Soc. Pharm. Montpellier*, 1960, 20, 249-254.
124. DASTUGUE G., JACQUEMET L., BASTIDE P., SIMON E., PLAT P.M. — A propos de quelques enzymes plaquettaires dans l'espèce humaine. — 8^e Cong. Soc. Europ. Hématol., Vienne, 28 août-2 sept. 1961.
125. DASTUGUE G., JACQUEMET L., PIGNIDE L., BASTIDE P., DUBIEF V. — Répartition érythroplasmatisque de l'aldolase chez l'homme à l'état normal et dans quelques cas pathologiques. — *Clermont Médical*, 1956, 4, 171-183.
126. DASTUGUE G., THIEBLOT L., BASTIDE P., BOYER J., BLAISE S. — Premières recherches sur les activités enzymatiques de la glande pinéale (aspirine-estérase, phosphatases acide et alcaline, 5-nucléotidase, leucine-aminopeptidase, adénosine-triphosphatase, transaminases glutamique oxalacétique et glutamique pyruvique, créatine-phosphokinase, aldolase, lactico-déhydrase, fumarase, phosphohexose-isomérase). — *J. Physiol.*, 1963, 55, 133-134.
127. DAVID S. — Contribution à l'étude des activités enzymatiques du tissu prostatique chez différentes espèces animales et de leur variation sous l'influence de quelques facteurs hormonaux. — *Thèse Doct. Etat Pharmacie*, Clermont-Ferrand, 1960.
128. DAVID S., DASTUGUE G., THIEBLOT L., BASTIDE P. — Activités estérasiqùes comparées dans la glande prostatique de quelques espèces animales. — *C. R. Soc. Biol.*, 1960, 154, 2276-2278.
129. DAVID S., NEVEU J., BASTIDE P., DASTUGUE G. — Activités enzymatiques dans l'adénome prostatique humain. — *Ann. Biol. Clin.*, 1960, 18, 303-306.
130. DAVSON H. — *The Physiology of the Eye*. Philadelphia, Blakiston, 1949.
131. DAVSON H. — Some considerations on the salt content of fresh and old ox cornea. — *Brit. J. Ophthal.*, 1949, 33, 175-182.
132. DAVSON H. — The hydratation of the cornea. — *Biochem. J.*, 1955, 59, 24-28.
133. DAY R. — Polysaccharides in ocular tissue. — *Amer. J. Ophthal.*, 1950, 33, 224-226.
134. DELAUNAY A., BAZIN S. — Etude biologique et pathologique du collagène, in *Les collagénoses*. — XXXI^e Congrès Français de Médecine, Paris, 1957, Masson éd.
135. DELBRUCK A. — TPN-specific isocitrate dehydrogenase in bovine cornea epithelium. — *Biochim. Biophys. Acta*, 1963, 77, 138-141.

136. DELOGU A., VECCHIONE L., TIERI O., POLZELLA A. — Activité de la déshydrogénase lactique du fragment cornéen transplanté. — *Ann. oculist., Paris*, 1963, 196, 269-274.
137. DESVIGNES P. — Biochimie de l'œil. — *Semaine Hôp. Paris*, 1953, 29, 2954.
138. DESVIGNES P., BARON J., LE VAN NHAM. — Etude de la respiration cornéenne par la méthode de Warburg. — *Bull. Soc. Ophthal. Paris*, 1953, 4, 368-370.
139. DEVI A. — The occurrence of proteases in the lens active under acidic pH. — *Amer. J. Ophthal.*, 1960, 49, 1421-1422.
140. DEVI A. — The occurrence of proteases in bovine lens. — *Amer. J. Ophthal.*, 1961, 51, 1004-1011.
141. DEVI A. — Proteolytic enzymes in human lens. — *Biochim. Biophys. Acta*, 1963, 73, 155-158.
142. DISCHE Z. — Physiological chemistry of the eye. — *Arch. Ophthal.*, 1957, 58, 562-604.
143. DISCHE Z., ROBERT L. — Chemistry of the Eye. — *Fed. Proc.*, 1962, 21, 172.
144. DOHLMAN C.H. — Incorporation of radioactive sulfate into the rabbit eye. — *Acta Ophthal., Kbh.*, 1957, 35, 115-130.
145. DOHLMAN C.H. — Cornea and Sclera. — *Arch. Ophthal.*, 1964, 71, 249-263.
146. DONN A., MILLER S.L., MALLETT N.M. — Water permeability of the living cornea. — *Arch. Ophthal.*, 1963, 70, 515-521.
147. DREYFUS J.C., SHAPIRA G. — Activités transaminasiques du sérum au cours des myopathies. — *C. R. Soc. Biol.*, 1955, 149, 1934-1937.
148. DUANE T.D. — The respiration of the stored cornea. — *Amer. J. Ophthal.*, 1948, 31, 1400-1404.
149. DUANE T.D. — The steady state of corneal hydration. — *Amer. J. Ophthal.*, 1949, 32, 203-207.
150. DUANE T.D. — Metabolism of the cornea. — *Arch. Ophthal.*, 1949, 41, 736-749.
151. DUKE-ELDER W.S. — *Text Book of Ophthalmology*, vol. I, Kimpton ed., London, 1938.
152. ELLIOTT B.A., WILKINSON J.H. — Serum α -hydroxybutyric dehydrogenase in myocardial infarction and in liver disease. — *Lancet*, 1961, 1, 698-699.
153. ENGELART E. — Der humorale Wirkungsmechanismus der oculomotoriusreizung. — *Arch. Ges. Physiol.*, 1931, 227, 220-224.
154. Enzyme Nomenclature. *Recommendations 1964 of the International Union of Biochemistry*. Elsevier publishing company, Amsterdam. London. N.Y. 1965.
155. EPSHTEYN M.M. — Respiration of fresh and preserved cornea. — *Vestn. Oftal.*, 1950, 29, 22.

156. ERANKO O., NIEMI M., MERENMIES E. — Histochemical observations on esterases and oxydative enzymes of the Retina. — In *The Structure of the Eye* by Smelser G.K., 1961, p. 159, Ac. Press N.Y., London.
157. ERICKSON O.F., HATLEN R., BERG M.H. — Electrophoretic characteristics of hyaluronidase, subtilin and carbonic anhydrase compared to lacrimal proteins. — *Amer. J. Ophthal.*, 1961, 51, 330.
158. ESILA R. — Histochemistry of retinal esterases. — *Acta Ophthal. Kbh.*, 1964, 42, 435-437.
159. EULER H. — *Chemie der Enzyme*. Bergmann ed., München, 1934.
160. EZUKA K. — Etude de l'adénosine-triphosphate dans la rétine. — *Arch. Ophtal. Paris*, 1956, 16, 8, 838.
161. FISCHER F.P. — Ueber den Gasaustausch der Hornhaut mit der Luft. — *Arch. f. Augenheilk.*, 1930, 102, 146-164.
162. FISKE Ch., SUBBAROW Y. — The colorimetric determination of phosphorus. — *J. Biol. Chem.*, 1929, 81, 629-632.
163. FLEMING A. — On a remarkable bacteriolytic element found in tissues and secretions. — *Proc. Roy. Soc. London*, 1922, 93, Ser. B, 306.
164. FORGACS J. — The succinic dehydrogenase activity in ocular tissue. — *Experientia*, 1962, 18, 329-330.
165. FORGACS J. — Activity of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase in the Retina of Rabbits and experimental Pigmentation of the Retina caused by monoiodoacetate. A histochemical study. — *Experientia*, 1963, 19, 236-238.
166. FORGACS J. — Enzymatic activity in the lens epithelium of the Rat. — *Ophthalmologica, Basel*, 1963, 145, 272-278.
167. FOWLKS W.L., GINGRICH R.E., ELDRIDGE R.B. — The isolation and characterization of another isozyme, lactic dehydrogenase of the lens. — *Invest. Ophthal.*, 1964, 3, 171-181.
168. FRANCIS C.M. — Cholinesterase in the Retina. — *J. Physiol.*, 1953, 120, 435-439.
169. FRANÇOIS J., RABAEY M. — Localisation histochimique de la phosphatase alcaline dans l'œil de certains mammifères. — *Ann. Oculist. Paris*, 1951, 184, 6, 481-497.
170. FRANÇOIS J., RABAEY M. — Recherches histochimiques sur le mucoïde de la cornée. — *Ann. Oculist., Paris*, 1953, 186, 901-917.
171. FRANÇOIS J., RABAEY M. — Nouvelle contribution à l'étude physico et histochimique du mucoïde de la cornée. — *Acta XVII Concil. Ophthal.*, 1954, 3, 1739-1747.
172. FRANÇOIS J., RABAEY M. — Les protéines de l'épithélium cornéen. — *Bull. Soc. Belge. Ophtal.*, 1954, 108, 641-652.
173. FRANÇOIS J., RABAEY M. — Nouvelles recherches sur le mucoïde de la cornée. — *Acta Ophthal., Kbh.*, 1956, 34, 45-62.

174. FRANÇOIS J., RABAËY M. — Les protéines de l'épithélium cornéen. — *Ann. Oculist., Paris*, 1956, 189, 445-458.
175. FRANÇOIS J., RABAËY M. — The anatomy of the cornea. — In *The Transparency of the Cornea* by Duke-Elder and Perkins. Masson éd., Paris, 1960.
176. FRANÇOIS J., RABAËY M. — Immunoelectrophoresis of the proteins of the corneal epithelium. — *Exp. Eye Res.*, 1963, 2, 196-202.
177. FRANÇOIS J., RABAËY M., VANDERMEERSCHÉ G. — Ultrastructure de la cornée au microscope électronique. — *Ophthalmologica, Basel*, 1954, 127, 74-85.
178. FRANÇOIS J., RABAËY M., WEINSTEIN R. — La glycoprotéine de l'épithélium cornéen. — *Ann. Oculist. Paris*, 1961, 194, 589-596.
179. FRENCH R.C., DUMA Z. — Protein metabolism of the cornea. Incorporation of C_{14} labeled amino acids into component of the rabbit cornea. — *Can. J. Biochem.*, 1964, 42, 111-120.
180. FRIEDENWALD J.S. — Studies on the physiology, biochemistry and cytopathology of the cornea in relation to injury by mustard gas and allied toxic agents. — *Bull. Johns Hopkins Hosp.*, 1948, 82, 326-337.
181. FRIEDENWALD J.S. — Recent studies on corneal metabolism and growth. — *Cancer Research*, 1950, 10, 461-466.
182. FRIEDENWALD J.S., BECKER B. — The histochemical localization of glucuronidase. — *J. Cell. Comp. Physiol.*, 1948, 31, 303-310.
183. FRIEDENWALD J.S., CROWELL J.E. — Histochemical studies on nucleic acid phosphatase. — *Bull. Johns Hopkins Hosp.*, 1949, 84, 568-582.
184. FUJIMOTO T. — Glutathione reductase in the rabbit lens. — *Acta. Soc. Ophthal. Jap.*, 1953, 57, 80-85.
185. FUJITA H. — Effect of carbonic anhydrase inhibitors on the enzymatic activities of ocular and other tissues. — *Acta Soc. Ophthal. Jap.*, 1961, 65, 703-713.
186. FUNATSU H., MOTEGI T. — Effects of the vitamin B₂ on corneal metabolism. — *Acta Soc. Ophthal. Jap.*, 1961, 65, 2439.
187. GAIPA M. — Phosphatases of ophthalmic tissues by the method of Takenchi and Nogami. — *Boll. Soc. Ital. Biol. Sper.*, 1962, 38, 758-760.
188. GARIGALI F., MARINO G. — Ricerche istochimiche sulla fosfomonoesterasi alcalina della cornea di vari animali. — *Minerva Oftal.*, 1963, 5, 20-25.
189. GLOSTER J. — Investigation of the carbonic anhydrase content of the cornea of the rabbit. — *Brit. J. Ophthal.*, 1955, 39, 743-746.

190. GLOSTER J. — Carbonic anhydrase in the vitreous body. — *Brit. J. Ophthalm.*, 1956, 40, 487-491.
191. GLOSTER J., PERKINS E.S. — Carbonic anhydrase in the lens and in ciliary body and iris of albinos rabbits. — *J. of Physiol.*, 1955, 130, 665-673.
192. GOLDBARG J.A., RUTENBURG A.M. — The colorimetric determination of leucine aminopeptidase in urine and serum of normal subjects and patients with cancer and other diseases. — *Cancer*, 1958, 11, 283-291.
193. GOMORI G. — An improved histochemical technique for acid phosphatases. — *Stain. Technol.*, 1950, 25, 81-85.
194. GOMORI G. — Histochemistry of esterases. — *Intern. Rev. Cytol.*, 1952, 1, 323-335.
195. GOMORI G. — Microscopic histochemistry. — *Univ. of Chicago Press*, 1954.
196. GONZALES COSTEA J.A., CASADO CORZO J.P., PENNA CARRILLO J. — Actividad citocromooxidasa de la cornea normal y patologica. — *Arch. Soc. Oftal. hisp. amer.*, 1960, 20, 1237-1238.
197. GRAYMORE C., TOWLSON M. — Levels of soluble NAD-linked α -glycerophosphate dehydrogenase and lactic acid dehydrogenase in Rat retina. — *Exp. Eye Res.*, 1963, 2, 48-52.
198. GREEN H., BOCHER C.A., CALNAN A.E., LEOPOLD I.H. — Carbonic anhydrase and the maintenance of intraocular tension. — *Arch. Ophthalm.*, 1955, 53, 463-471.
199. GRETHE H., KOHLER V., MUNICH W., SCHARF J. — Histochemische untersuchungen an der cornea über dein einfluss von monojodessigsäure, phlorhizin und hyaluronidase auf die the alkalische phosphatase. — *Arch. exp. Path. Berlin*, 1952, 214, 398-409.
200. GRIGNOLO A. — Studi sulla struttura submicroscopia dei tessuti oculari. — *Boll. oculist.*, 1954, 33, n° 9, 513-584.
201. GROF P., BOROS B., AGOSTON J. — Free Histamine Content of Cattle eyes. — *Kiserl. Orvostud*, 1964, 16, 113-118.
202. GUAYMAS P. — The chemical constitution of the cornea. — *Rev. Fac. Cienc. Nat. Salta. Univ. Nacl. Tucuman*, 1962, 1, pars 3, 45-75.
203. HAMA H. — Distribution of β -glucuronidase activity in the ocular tissue. — *Shikoku Igaku Zasshi*, 1957, 10, 32-37.
204. HARRIS J.E. — The physiologic control of corneal hydration. — *Amer. J. Ophthalm.*, 1957, 44, 262-280.
205. HARRIS J.E. — Factors influencing corneal hydration. — *Invest. Ophthalm.*, 1962, 1, 151-157.
206. HARRIS J.E., GEHRSTZ L., GRUBER L. — The hydration of the cornea. — *Amer. J. Ophthalm.*, 1956, 42, 325-329.
207. HARRIS J.E., GRUBER L. — The hydration of the cornea. Influence of the epithelium. — *Amer. J. Ophthalm.*, 1956, 42, 330-337.

208. HARRIS J.E., NORDQUIST L.T. — The hydration of the cornea. The transport of water from the cornea. — *Amer. J. Ophthal.*, 1955, 40, 100-110.
209. HART W. — Swelling properties affecting the transmission of visible light by the fibrous tunic of the eye. — *Arch. Ophthal.*, 1947, 37, 692-695.
210. HATTORI S. — Les lipases dans les tissus oculaires. — *Arch. Ophthal., Paris*, 1956, 16, 645-646.
211. HAYANO S. — Ueber die Fermente im kammerwasser. — *Klin. Mbl. Augenheilk.*, 1920, 65, 755.
212. HAYANO S. — Transaminase in the retina. — *Acta Soc. Ophthal. Jap.*, 1955, 59, 83-85.
213. HAYASHI M., NAKAJIMA, FISHMAN W.H. — The cytologic demonstration of β -glucuronidase employing naphthol - AS - BI - glucuronide and hexazonium pararosanilin. A preliminary report. — *J. Histochem. Cytochem.*, 1964, 12, 293-297.
214. HEALD K., LANGHAM M.E. — Permeability of the cornea and blood aqueous barrier to oxygen. — *Brit. J. Ophthal.*, 1956, 40, 705-720.
215. HEATH H. — The distribution and possible functions of Ascorbic acid in the eye. — *Exp. Eye Res.*, 1962, 1, 362-367.
216. HEATH H., RUTTER A.C., FLETCHER T.C. — Activities of glucose-6-phosphate deshydrogenase and of 6-phosphogluconate deshydrogenase in the retina from alloxan-diabetics Rats. — *Vision Res.*, 1963, 3, 95-100.
217. HEBB C.O., SILVER A., SWAN A.B., WALSH E.G. — Histochemical study of cholinesterase of rabbit retina and optic nerve. — *Quart. J. Exp. Physiol.*, 1953, 38, 185-191.
218. HERRMANN H. — Specific and general aspects of the development of enzymes and metabolic pathways. — *Physiol. Rev.*, 1964, 44, 289-371.
219. HERRMANN H., FRIEDENWALD J.S. — The cholinesterase content of the choroid plexus and ciliary processes. — *Bull. Johns Hopkins Hosp.*, 1942, 70, 14-17.
220. HERRMANN H., FRIEDENWALD J.S., BOSS P. — Enzymatic oxidations in tissue fractions of the ciliary process. — *Bull. Johns Hopkins Hosp.*, 1946, 78, 119-125.
221. HERRMANN H., HICKMAN F.H. — Exploratory studies on corneal metabolism. — *Bull. Johns Hopkins Hosp.*, 1948, 82, 225-250.
222. HERRMANN H., HICKMAN F.H. — Further experiments on corneal metabolism in respect to glucose and lactic acid. — *Bull. Johns Hopkins Hosp.*, 1948, 82, 260-272.
223. HERRMANN H., HICKMAN F.H. — The consumption of pyruvate, acetoin, acetate and butyrate by the cornea. — *Bull. Johns Hopkins Hosp.*, 1948, 82, 273-286.
224. HERRMANN H., HICKMAN F.H. — The utilization of ribose and other pentoses by the cornea. — *Bull. Johns Hopkins Hosp.*, 1948, 82, 287-294.

225. HERRMANN H., MOSES S.G. — Content and state of glutathione in the tissues of the eye. — *J. Biol. Chem.*, 1945, 158, 33-45.
226. HERRMANN H., MOSES S.G. — Studies on non-protein nitrogen in the cornea. — *Bull. Johns Hopkins Hosp.*, 1948, 82, 295-311.
227. HERRMANN H., MOSES S.G., FRIEDENWALD J.S. — Influence of pontocaine hydrochloride and chlorobutanol on respiration and glycolysis of cornea. — *Arch. Ophthal.*, 1942, 28, 652-655.
228. HESS R., SCARPELLI D.G., PEARSE A.G.F. — The cytochemical localization of oxidative enzyme. — *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, 1958, 4, 753-760.
229. HOFFMAN R.S., MESSIER P.E. — Mechanism of corneal wound healing; cells involved in corneal growth and repair. — *Arch. Ophthal.*, 1949, 42, 140-147.
230. HOLT S.J., WITHERS R.F.J. — Studies in enzyme cytochemistry. An appraisal of indigogenic reactions for esterase localization. — *Proc. Roy. Soc. Ser.*, 1958, 148, 520-531.
231. HOOFF A. Van den — De doorzichtigheid van de cornea. — *Ned. T. Geneesk.*, 1951, 95, 2491-2494.
232. HOTTA K., SUGIURA Y., TAKENO M. — D-amino acid oxidase of rabbit retina. — *Bitamin.*, 1959, 18, 90-91.
233. HURST R.O., BUTLER G.C. — Distribution of the nucleotidase activity. — *J. Biol. Chem.*, 1951, 193, 91.
234. HUTCHINSON B.T., KUWABARA T. — Phosphorylase and uridine diphosphoglucose-glycogen synthetase in the retina. — *Arch. Ophthal.*, 1962, 68, 538-545.
235. ICHIKAWA K. — Mode of wound healing in the cornea. An histochemical study. — *Acta. Soc. Ophthal. Jap.*, 1953, 57, 374-379.
236. IGA M., OTORI T., HARA J. — Dehydrogenase in the lens and ciliary epithelium. — *Acta Soc. Ophthal. Jap.*, 1960, 64, 1953-1958.
237. IIDA M. — Phosphatase of the cornea. — *Acta Soc. Ophthal. Jap.*, 1955, 59, 44-58, 109-122.
238. IKEBATA Y. — Ueber die Zusammensetzung das Kammerwassers. — *Bioch. Zs.*, 1927, 182, 236-243.
239. IRVINE A.R. — The lens and vitreous. — *Arch. Ophthal.*, 1960, 63, 154-170, 176-196.
240. ITOI M. — Corneal collagen. — *Acta Soc. Ophthal. Jap.*, 1960, 64, 898-903 et 1105-1119; 1961, 65, 924-927.
241. IWAI M. — Das Verhalten der einzelnen Hornhautschichten für Permeabilität. — *Acta Soc. Ophthal. Jap.*, 1938, 42, 101-104.

242. JAEGER W. — Untersuchungen über dehydrierende ferment systeme der cornea. — *Graefes Arch. Ophthal.*, 1953, 154, 142-147.
243. JAEGER W. — Die Bedeutung dehydrierender ferment systeme für die pathologie der Cornea. — *Graefes Arch. Ophthal.*, 1953, 154, 401-430.
244. JAEGER W. — Einwirkung therapeutisch am Auge verwendeter Medikamente auf die dehydrierender ferment systeme der Cornea. — *Graefes Arch. Ophthal.*, 1953, 154, 431-466.
245. JAFFE K.S. — Cholinesterase in the aqueous of the eye. — *Arch. Ophthal.*, 1948, 40, 273-278.
246. JAKUS M.A. — The fine structure of Descemet's membrane. — *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, 1956, 2, 243-255.
247. JAKUS M. — The fine structure of the human cornea. — *The structure of the Eye*, 1961, Ac. Press ed. N.Y. London.
248. JASINSKI M. — De l'influence des ferments protéolytiques sur les albumines contenues dans l'humeur aqueuse. — *Bull. Mém. Soc. Fr. Ophtalm.*, 1925, 38, 433-436.
249. JAVILLIER M., POLONOVSKI M., FLORKIN M., BOULANGER P., LEMOIGNE M., ROCHE J., WURMSER R. — *Traité de Biochimie générale*, 1964, tome II, Masson éd., Paris.
250. JESS A. — Zür vergleichenden Chemie der Hornhaut und der Lederhaut des Auges. — *Graefes Arch. Ophthal.*, 1923, 112, 489-491.
251. KAMEI T. — Phosphorylase in the lens. — *Acta Soc. Ophthal. Jap.*, 1960, 64, 442-444.
252. KANEKO R. — A study of adenosine triphosphatase in the retina. — *Acta Soc. Ophthal. Japan.*, 1960, 64, 978-986.
253. KARKELA A., MIETTINEN P. — On the changes in the activity of glutathion reductase on the maturation of senile cataract. — *Acta Ophthal., Kbh.*, 1961, 39, 411-412.
254. KATZIN H.M. — The preservation of corneal tissue by freezing and dehydration. — *Amer. J. Ophthal.*, 1947, 30, 1128-1134.
255. KAUFMAN H.E., CAPELLA J.A., BOBBINS J.E. — A study of enzyme activity in corneal repair. — *Invest. Ophthal.*, 1964, 3, 34-46.
256. KAUTH H., SOMMER H. — Das Ferment Kohlensäureanhydratase im Tierkörper IV, über die Funktion des Pekten im Vogelaug. — *Biol. Zbl.*, 1953, 72, 196-209.
257. KAWERAU E., OTT H. — The soluble proteins of the cornea. Paper and immunoelectrophoretic studies. — *Exp. Eye Res.*, 1961, 1, 137-144.
258. KAYE G.I. — Studies on the cornea. — *J. Cell. Biol.*, 1962, 15, 241-258.

259. KAYE G.I., PAPPAS G.D. — The fine structure of the rabbit cornea. — *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, 1962, 12, 457-480.
260. KAYE G.I., PAPPAS G.D. — Electron microscopic localization of A.T.P. ase activity in the corneal endothelium and the ciliary epithelium of the rabbit. — *Proc. European Reg. Conf. Electron microscopy 3rd. Prague*, 1964, B, 313-314.
261. KHVATOVA E.M. — Hyaluronidase activity of the retina. — *Bjull. eksp. Biol. Med.*, 1959, 47, 13.
262. KING I.H., Mc TIGUE J.W. — The Cornea World Congress, Butterworths, London, 1965, 754 p.
263. KINOSHITA J.H. — The stimulation of the phosphogluconate oxydation pathway by pyruvate in Bovine corneal epithelium. — *J. biol. chem.*, 1957, 228, 247-253.
264. KINOSHITA J.H. — Some aspects of the carbohydrate metabolism of the cornea. — *Invest. Ophthalm.*, 1962, 1, 178-186.
265. KINOSHITA J.H., MASURAT T. — The direct oxidative carbohydrate cycle of bovine corneal epithelium. — *Arch. Biochem. Biophys.*, 1954, 53, 9-19.
266. KINOSHITA J.H., MASURAT T. — Aerobic pathways of glucose metabolism in bovine corneal epithelium. — *Amer. J. Ophthalm.*, 1959, 48, 1-2, 47-52.
267. KINOSHITA J.H., MASURAT T., HELFANT M. — Pathways of glucose metabolism in corneal epithelium. — *Science*, 1955, 122, 72-73.
268. KINSEY V.E. — Physiologic chemistry of the eye. — *Arch. Ophthalm.*, 1950, 44, 584-599.
269. KINSEY V.E. — Physiologic chemistry of the eye. — *Arch. Ophthalm.*, 1951, 46, 441-458.
270. KINSEY V.E. — Physiologic chemistry of the eye. — *Arch. Ophthalm.*, 1952, 48, 498-516.
271. KINSEY V.E., COGAN D.G. — The cornea; hydration properties of excised corneal pieces. — *Arch. Ophthalm.*, 1942, 28, 272-284.
272. KINSEY V.E., COGAN D.G. — The cornea; hydration properties of the whole cornea. — *Arch. Ophthalm.*, 1942, 28, 449-463.
273. KIRSTEN G., DARDENNE U. — Die aktivität der Glutamat - oxalacetat - Transaminase und der Glutamat - pyruvat - Transaminase in den einzelnen Teilen der Linsen von Kalb und Rind. — *Graefes Arch. Ophthalm.*, 1962, 165, 43-50.
274. KLIMA M. — The significance of the posterior long ciliary arteries for the nutrition of the cornea. — *Vestn. Oftal.*, 1962, 1, 21-23.
275. KMONICEK J. — Enzymatic activity of the human lens. — *Cs. Oftal.*, 1961, 17, 102-106.
276. KOELLE G.B., COERS A., GEREBTZOFF M.A. — Techniques actuelles d'histoenzymologie. — *Biologie Médicale*, 1958, 47, n° 1, 41-42.

277. KOELLE G.B., FRIEDENWALD J.S. — The histochemical localization of cholinesterase in ocular tissues. — *Amer. J. Ophthalm.*, 1950, 33, 253-258.
278. KOELLE G.B., WOLFANG L., FRIEDENWALD J.S., ALLEN R.A. — Localization of specific cholinesterase in ocular tissues of cat. — *Amer. J. Ophthalm.*, 1952, 35, 1580-1584.
279. KÖLHER V., FURST E., SCHARF J. — Der einfluss des desoxycorticosteron - acetat auf die dehydrasen aktivität der isolierten Kalbshornhaut bei verschiedenen temperaturen. — *Endokrinologie*, 1952, 22, 293-297.
280. KÖHLER V., MUNICH W., SCHARF J. — Der Einflusseiniger antirheumatischen substanzen auf Gervebsenzyme. — *Experientia*, 1952, 8, 115-120.
281. KOJ A., ZGLISCZYNSKI J.M., FREND J. — Distribution of transaminases in human blood cells. — *Clin. Chim. Acta*, 1960, 5, 339-341.
282. KOJIMA K., IIDA M., MAJIMA Y., OKADA S. — Histochemical studies on monoamine oxidase in the Rabbit Retina. — *Folia Ophthalm. Jap.*, 1959, 10, 29-37.
283. KOJIMA K., IIDA M., MAJIMA Y., OKADA S. — Histochemical studies on monoamine oxidase of the human retina. — *Jap. J. Ophthalm.*, 1961, 5, 205-210.
284. KOJIMA K., IIDA M., OKADA S., NOJI H. — Retinal DPN - diaphorase and its catalytic fields. — *Acta Soc. Ophthalm. Jap.*, 1962, 66, 444-449.
285. KONEKO R. — Studies on Hexokinase in the Retina. — *Acta Soc. Ophthalm. Jap.*, 1960, 64, 2099-2106.
286. KONTTINEN A. — α -hydroxybutyric dehydrogenase in the detection of myocardial infarction. — *Lancet*, 1961, 2, 556-559.
287. KONTTINEN A., HALONEN P. — Serum α -hydroxybutyric dehydrogenase in myocardial infarction. — *Amer. J. Cardiol.*, 1962, 10, 525-531.
288. KORC I., CALCAGNO M. — Glucose-6-phosphate deshydrogenase and aldolase in lenses of lactose fed rats. — *Nature, London*, 1963, 197, 690-691.
289. KORNBERG A., HORECKER B.L. — Enzymes of carbohydrate metabolism in *Methods in Enzymology*. Ac. Press. N.Y., 1955, 1, 323.
290. KOS S., SZYBINSKI Z. — Oxidation of methanol in the organ of vision. — *Acta Biochim. Polon.*, 1962, 9, 3-10.
291. KOVALEV D.S. — Hyaluronidase activity of iris and ciliary body tissue in cases of glaucoma, cataract and traumatism. — *Tr. Smolenskogo Med. Inst.*, 1963, 16, 253-258.
292. KRAMER S.P., ARONSON L.D., ROSENFELD M.G., SULKIN M.D., CHANG A., SELIGMAN A.M. — Human pancreatic lipase study. — *Arch. Biochem. Biophys.*, 1963, 102, 1-10.
293. KRAUSE A.C. — The chemical constitution of the cornea. — *Amer. J. Ophthalm.*, 1932, 15, 422-424.

294. KRAUSE A.C. — Chemistry of the Lens. Autolyses of the lenticular proteins. — *Arch. Ophthalm.*, 1933, 10, 631-639.
295. KRAUSE A.C. — The Biochemistry of the Eye. Baltimore, Johns Hopkins Press, 1934.
296. KRAUSE A.C. — Biochemistry of the eye. — *Arch. Ophthalm.*, 1936, 15, 522-543.
297. KRISHNA N., DIANO V.I., LEOPOLD I.H. — Manometric determination of monoamine oxidase in cat ocular tissue. — *Arch. Ophthalm.*, 1962, 67, 488-489.
298. KRISHNA N., MANN M.J., LEOPOLD I.H. — Manometric determination of monoamine oxidase in ocular tissues. — *Arch. Ophthalm.*, 1961, 65, 338-344.
299. KUHLMAN R.E. — Species variation in the enzyme content of the corneal epithelium. — *J. Cell. Comp. Physiol.*, 1959, 53, 313-326.
300. KUHLMAN R.E., KAUFMAN H.E. — A microchemical study of the aqueous humor enzyme protein interrelations. — *Arch. Ophthalm.*, 1960, 63, 41-46.
301. KUHLMAN R.E., RESNIK R.A. — Quantitative histochemical changes in the development of the rat lens and cornea. — *Amer. J. Ophthalm.*, 1958, 46, 47-55.
302. KUHLMAN R.E., RESNIK R.A. — Enzymic studies of x-irradiated cornea and lens with special reference to glutathione reductase. — *Biochem. J.*, 1959, 72, 261-265.
303. KUHLMAN R.E., RESNIK R.A. — The oxidation of C₁₄ labeled glucose and lactate by the rabbit cornea. — *Arch. Biochem. Biophys.*, 1959, 85, 29-36.
304. KURACHI Y., MATSUDA H. — The effect of instillation of L-aspartate on corneal metabolism of rabbit. — *Nippon Ganka Gakkei Zasshi*, 1964, 68, 238-244.
305. KURIMOTO S., NEWELL F.W. — Localization of phosphorylase in the alloxan diabetic Rat retina. — *Invest. Ophthalm.*, 1963, 2, 24-31.
306. KUSUNOKI K. — Histochemical studies on the succinic dehydrogenase system, DPN-diaphorase, TPN-diaphorase in the Rabbit cornea. — *Folia Ophthalm. Jap.*, 1960, 11, 1-14.
307. KUWABARA T., COGAN D. — Tetrazolium studies on the retina activity of metabolic intermediates and miscellaneous substrals. — *J. Histochem. Cytochem.*, 1960, 8, 214-224.
308. LAMBERT B., DONN A. — Effect of ouabain on active transport of sodium in the cornea. — *Arch. Ophthalm.*, 1964, 72, 525-528.
309. LANGHAM M.E. — Respiration of the cornea. — *J. Physiol.*, 1951, 115, 65 p.
310. LANGHAM M.E. — Utilisation of oxygen by the component layers of the living cornea. — *J. Physiol.*, 1952, 117, 461-470.

311. LANGHAM M.E. — Glycolysis in the cornea of the rabbit. — *J. Physiol.*, 1954, 126, 396-403.
312. LANGHAM M.E. — Corneal metabolism and its influence on corneal hydration in the excised eye and in the living animals. — In *The Transparency of the Cornea*, by Duke-Elder and Perkins, Masson éd., Paris, 1960.
313. LANGHAM M.E. — The interrelation of metabolism and deturgescence of the living cornea. — *Invest. Ophthalm.*, 1962, 1, 187-194.
314. LANGHAM M.E., TAYLOR I.S. — Factors affecting the hydration of the cornea in the excised eye and the living animals. — *Brit. J. Ophthalm.*, 1956, 40, 321-340.
315. LA TESSA A.J., TENG C.C., KATZIN H.M. — The biochemistry of the basement membrane of the cornea. — *Amer. J. Ophthalm.*, 1954, 38, 171-177.
316. LAURENT T.C., ANSETH A. — Studies on corneal polysaccharides. II. - Characterization. — *Exp. Eye Res.*, 1961, 1, 99-105.
317. LAVERGNE G. — Experimental studies of the hydration of the cornea of the enucleated eye. — *Acta Ophthalm., Kbh.*, 1963, 41, 288-303.
318. LEBENSOHN J.E. — The biochemistry of the Eye. — *Amer. J. Ophthalm.*, 1933, 16, 1062.
319. LEBER T. — Die Zirkulation und Ernährungsverhältnisse der Auges. — *Graefes Soemisch. Hand. des ges. Aughkde.*, 1903, 2, 2, 221-234.
320. LEE O.S.J., HART W.M. — The metabolism of the cornea. — *Amer. J. Ophthalm.*, 1944, 27, 488-500.
321. LEINFELDER P.J. — Aerobic glycolysis of corneal tissue. — *Trans. Amer. Ophthalm. Soc.*, 1948, 46, 412-422.
322. LENTI C. — Glycolysis in the retina. — *Atti accad. nazl. Lincei, Rend., Cl. Sci. fis., mat. e nat.*, 1956, 21, 446-450.
323. LEOPOLD I.H. — Pharmacology and Toxicology. — *Arch. Ophthalm.*, 1950, 44, 300-348.
324. LERMAN S. — Enzymatic factors in experimental galactose cataract. — *Science*, 1959, 130, 1473-1474.
325. LERMAN S. — Pathogenetic factors in experimental galactose cataract. — *Arch. Ophthalm.*, 1961, 65, 334-337.
326. LERMAN S. — Cytochrome C reductase of Tri and Diphosphopyridine nucleotides in Rat lens. — *Science*, 1961, 133, 100-101.
327. LERMAN S., HEGGENESS F.M. — The metabolism of xylose by the ocular lens of the Rat. — *Biochem. J.*, 1961, 79, 224-229.
328. LESSEL S., KUWABARA T. — Phosphatase histochemistry of the eye. — *Arch. Ophthalm.*, 1964, 71, 851-860.
329. LIBERMAN R. — Retinal cholinesterase and glycolysis in rats raised in darkness. — *Science*, 1962, 135, 372-373.

330. LIEBERMAN L. — Beiträge zur Kenntnis der Fermentwirkungen Versuche über Wasserstoffsuperoxyd. Katalase mit einigen Extracten thierischen Ursprungs. — *Pfluger's Arch. f. d. ges. Physiol.*, 1904, 104, 203-206.
331. LO CASCIO G. — Sui fermenti dei tessuti e dei liquidi oculari. — *Ann. Ottal.*, 1922, 50, 83-114.
332. LOHMANN K. — Ueber Phosphorylierung und Dephosphorylierung Bildung der natürlichen Hexosemonophosphorsäure aus ihren Komponentem. — *Bioch. Ztsch.*, 1933, 262, 137.
333. LOWRY O.H., ROBERTS N.R., LEWIS Ch. — The quantitative histochemistry of the retina. — *J. Biol. Chem.*, 1956, 220, 879-892.
334. LOWRY O.H., ROBERTS N.R., SCHULZ D.W., CLOW J.E., CLARK J.R. — Quantitative histochemistry of the retina. Enzymes of glucose metabolism. — *J. Biol. Chem.*, 1961, 236, 2813-2820.
335. LOWRY O.H., ROBERTS N., WU M., HIXON W., CRAWFORD E. — Quantitative histochemistry of brain. — *J. Biol. Chem.*, 1954, 207, 19-37.
336. MAJIMA Y. — Phosphatase activities in the ocular tissue. — *Jap. J. Ophthal.*, 1958, 2, 192-197.
337. MAJIMA Y. — Changes of adenosine-triphosphatase and 5-nucleotidase in the visual cells caused by light and dark adaptation. — *Acta Soc. Ophthal. Jap.*, 1958, 62, 185-190.
338. MAMO J.G., NOWAROWSKI J., LEOPOLD I.H. — Carbonic anhydrase in the embryonic rabbit eye. — *Arch. Ophthal.*, 1960, 63, 510-514.
339. MARCHESI V.T., SEARS M.L., BARNETT R.J. — Electron microscopic studies of nucleoside phosphatase activity in blood vessels and glia of the retina. — *Invest. Ophthal.*, 1964, 3, 1-21.
340. MARCHLEWITZ M. — Contribution to enzyme iontophoresis of the rabbit eye. — *Klin. Mbl. Augenheilk.*, 1963, 143, 70-75.
341. MARQUARDT P. — Fermente des Auges. — *Tabulae biologicae*, 1951, 22, pars 2, 143-160.
342. MATSUMOTO K., KUDO T. — Determination of the oxygen consumption of the cornea by polarography. — *Acta Soc. Ophthal. Jap.*, 1960, 64, 1610-1622.
343. MAURICE D.M. — The permeability to sodium ions of the living rabbit's cornea. — *J. Physiol.*, 1951, 122, 367-391.
344. MAURICE D.M. — The permeability of the cornea. — *Ophthal. Lit.*, 1953, 7, 3-26.
345. MAURICE D.M. — The structure and transparency of the cornea. — *J. Physiol.*, 1957, 136, 263-286.
346. MAURICE D.M. — *The Cornea and Sclera, in the Eye*, by Davson H., 1962, 1, 289-368, Ac. Press, N.Y. London.

347. MAURICE D.M. — Corneal anatomy and physiology. — *Amer. J. Ophthalm.*, 1965, 59, 327-328.
348. MAURICE D.M., GIRARDINI A.A. — Swelling of the cornea in vivo after the destruction of its limiting layers. — *Brit. J. Ophthalm.*, 1951, 35, 791-797.
349. MAYER G. — Hyaluronidase in ocular tissues. — *Brit. J. Ophthalm.*, 1955, 39, 747-750.
350. MAYER G., MICHAELSON I.C., HERZ N. — Hyaluronidase in the tissues of the rabbit's eye. — *Brit. J. Ophthalm.*, 1956, 40, 53-56.
351. MEISTER A. — Lactic dehydrogenase activity of certain tumors and normal tissues. — *J. Nat. Cancer Inst.*, 1950, 10, 1263-1271.
352. MELIK A.B., MUS'YAN. — The application of the Gomori method to the histochemical study of the eye retina. — *Izvest. Akad. Nauk. Armyan. SS. R. Biol. Nauki.*, 1960, 13, 6, 59-63.
353. MENNA F. — Rilievi istochimici su occhi di topini pan reongenirradiati ed azione protettiva del Solcoseryl. — *Arch. Ottal.*, 1960, 64, 423-436.
354. METHFESSEL J. — Ueber das proteolytische System der Augenlinse. — *Ber. Ges. Physiol.*, 1957, 189, 118-119.
355. MEYER K. — Mucopolysaccharides and mucoids of ocular tissues and their enzymatic hydrolysis. — *Modern trends in Ophthalmology*: Bd, 2, London, 1948.
356. MEYER K., CHAFFEE E. — The mucopolysaccharide acid of the cornea and its enzymatic hydrolysis. — *Amer. J. Ophthalm.*, 1940, 23, 1320-1325.
357. MEYER K., CHAFFEE E. — Mucopolysaccharide acid of cornea and possible relation to spreading factor. — *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1940, 43, 487-489.
358. MEYER K., LINKER A., DAVIDSON E.A., WEISSMANN B. — The mucopolysaccharides of bovine cornea. — *J. Biol. Chem.*, 1953, 205, 611-616.
359. MEYERHOF O. — Ueber die enzymatische Gleichgewichtreaktion zwischen Hexosediphosphorsäure und Dioxyacetonphosphorsäure. — *Bioch. Ztsch.*, 1934, 98, 271-274.
360. MICHII KOMOTO. — Fibrinolytic activity of the cornea in corneal heterograft comparative observations on the fibrinolytic activity of the cornea in various normal animals. — *Nippon Ganka Gakkei Zasshi*, 1963, 67, 737-743.
361. MIGLIOR M., ORZALESI N.F. — Indagini in vitro sulla capacità di fissazione del lisozima da parte di omogenati di tessuti oculari. — *Boll. oculist.*, 1961, 40, 561-562.
362. MIGLIOR M., ORZALESI N. — Les composants macromoléculaires hydrosolubles de la cornée. Recherches chimiques, électrophorétiques et enzymatiques. — *Ann. Ottal.*, 1964, 90, 613-648.
363. MIGLIOR M., PIRODDA A. — Attività lisozimica del tessuto corneale dell' humo e di alcuni mammiferi domestici. — *G. ital. oftal.*, 1953, 6, 494-497.

364. MILLS N.L., DONN A. — Incorporation of tritium labeled thymidine by rabbit corneal endothelium. — *Arch. Ophthalm.*, 1960, 64, 443-446.
365. MIMURA Y., MORISUE T., KOTZUKA Y. — Studies of enzymatic activity of the bovine corneal epithelium. — *Folia Ophthalm. Japan*, 1963, 14, 314-323.
366. MINAMI M. — Cholinesterase in ocular tissues. — *Igaku to Seibutsugaku Japan*, 1951, 21, 58-61.
367. MINAMI M. — The location of cholinesterase in the Retina. — *Acta Soc. Ophthalm. Jap.*, 1952, 56, 604-613.
368. MISSOTEN L. — Ultrastructure des tissus oculaires. — *Bull. Soc. Belg. Ophthal.*, 1964, 136, 45-69.
369. MIZUKAWA T., IGA M., KUBO S., YAMAMOTO M. — Histochemical studies in fresh pigment epithelium isocitric dehydrogenase and cytochrome oxidase. — *Jap. J. Ophthalm.*, 1959, 3, 68-72.
370. MIZUNO K. — Histochemical studies on the glia cell in the retina and optic nerve. — *Nippon Ganka Gakkai Zasshi.*, 1964, 68, 11, 1567-1573.
371. MONTAGNA W. — *The Structure and Function of Skin*. Ac. Press. N.Y. London, 1962, 454 p.
372. MOORE B.W., WORTMAN B. — Multiple forms of lactico-dehydrogenase in rabbit cornea. — *Biochim. Biophys. Acta*, 1959, 34, 260-262.
373. MOREAU P.G. — Anatomie de la cornée. — *Leçons d'anatomie et de physiologie ophtalmologiques*, 1962, n° 20, 1-11.
374. MORONE G. — Ricerche istochimiche su alcuni sistemati enzimati della cornea liofilizzata. — *G. Ital. Oftal.*, 1957, 10, 2, 102-111.
375. MORONE G. — Studio istochimico degli enzimi respiratori della congiuntiva e della cornea. — *Ann. Ottal. e clin. ocul.*, 1964, 9, 483-486.
376. MOSCONA A.A., HUBBY J.L. — Experimentally induced changes in glutamo-transferase activity in embryonic tissue. — *Develop. Biol.*, 1963, 7, 192-206.
377. MULLER H.K. — Ueber die Altersabhängigkeit der leicht und schwer hydrolisierbaren Phosphorsäureester der linse. — *Arch. Augenheilk.*, 1937, 110, 128-136, 205-215.
378. MUNICH W. — Untersuchungen über die Milchsäuredehydrogenase-Aktivität im entzündlich veränderten und im nicht entzündlich veränderten menschlichen Kammerwasser. — *Ber. Dtsch. Ophth. Ges.*, 1959, 62, 36-39.
379. MÜNICH W., OSWALD A. — Papierelektrophoretische Untersuchungen über das Verhalten verschiedener wasserlöslicher Organproteine des Kalbsauges. — *Graefes Arch. Ophthalm.*, 1955, 156, 547-550.
380. MUTOH R. — Transaminases in ocular tissues. — *Acta Soc. Ophthalm. Jap.*, 1960, 64, 42-68.

381. MYLINS E.A. — Amylase in tears. A histochemical study. — *Acta path. microb. Scand.*, 1961, 148, 143-149.
382. NACHLAS M.N., CRAWFORD D.T., SELIGMAN A.M. — The histochemical demonstration of leucine aminopeptidase. — *J. Histochem. Cytochem.*, 1957, 2, 264-278.
383. NACHLAS M.N., FRIEDMAN M.M., SELIGMAN A.M. — New observations on the histochemical localization of leucine aminopeptidase. — *J. Histochem. Cytochem.*, 1962, 10, 315-323.
384. NACHLAS M.N., TSOU K.C., SOUZA E. de, CHENG, SELIGMAN A.M. — Cytochemical demonstration of succinic dehydrogenase by the use of a new p-nitrophenyl substituted ditetrazolium. — *J. Histochem. Cytochem.*, 1957, 5, 420-436.
385. NACHMANSOHN D. — Cholinesterase dans les tissus embryonnaires. — *C. R. Soc. Biol. Paris*, 1938, 127, 670-674.
386. NACHMANSOHN D. — On the physiological significance of cholinesterase. — *Yale J. Biol. Med.*, 1940, 12, 565-568.
387. NAGAYA Y. — Histochemical studies of glycogen-phosphorylase. Methode, distribution. — *Acta Soc. Ophthal. Jap.*, 1954, 58, 473-475, 476-478.
388. NASU H., APPONI G., VIALE G.L. — Histochemical investigations on the oxidative enzymes in the human retina. — *Z. Zellforsch. Mikroskop. Anat.*, 1962, 56, 188-196.
389. NEMETZ U.R., POMMER H. — The role of the vena vorticosae in the metabolism of the eye. — *Wien Med. Wschr.*, 1959, 109, 841-842.
390. NIEMI M., MERENMIES E. — Cytochemical localization of the oxidative enzyme systems in the retina. Diaphorases, deshydrogenases, cytochrome oxidase. — *J. Neurochem.*, 1961, 6, 200-209.
391. NODA T. — Phosphatase in ocular tissues. — *Acta Soc. Ophthal. Jap.*, 1954, 58, 651-657.
392. NOVER A., SCHULTZE B. — Autoradiographische untersuchung über den Eiweiss - stoffwechsel in den Geweben und zellen des Auges. — *Graefes Arch. Ophthal.*, 1960, 161, 554-578.
393. NOVIKOFF A.B. — Electron transport enzymes. Biochemical and tetrazolium staining studies in: *Histochem. Cytochem. Proc. 1er. Intern. Cong. Paris*, 1960, Wegmann ed. Pergamon, N.Y. 1963, 465-481.
394. OBERBERGER J., PRAUS R. — Hydratation and incorporation of radioactive sulfur into rabbit cornea after partial and total abrasion of corneal epithelium. — *Cesk. Oftal.*, 1964, 20, 21-26.
395. OCHI M., TAKENCHI M., Koyama T. — Studies on viability of rabbit cornea stored at low temperature. Investigation on oxygen consumption by means of the oxygraph. — *Acta Soc. Ophthal. Jap.*, 1960, 64, 1401-1410.

396. OFFRET G., PAYRAU P., POULIQUEN Y., FAURE J.P., HAMEAU J.P. — Mucopolysaccharides de la cornée. Répartition, rôle, modifications dans les cornées normales et pathologiques. — *Arch. Ophtal., Paris*, 1962, 22, 699-722.
397. OFFRET G., POULIQUEN Y. — Métabolisme des mucopolysaccharides cornéens. — *Année thérapeutique et clinique en ophtalmologie*, 1963, 14, 123-144; *Ann. Oculist., Paris*, 1964, 197, 302-307.
398. OGATA T., MORI M. — Histochemical study of oxydative enzymes in vertebrate muscles. — *J. Histochem. Cytochem.*, 1964, 12, 171-182.
399. OGIER R., BASTIDE P., FRAUX J., DASTUGUE G. — Activités enzymatiques au niveau du thymus lyophilisé d'agneau. — *J. Physiol.*, 1965, 57, 669.
400. OGIHARA H. — Histochemical study of synthesis of indophenol blue in eye as method for demonstration of oxydase. — *Nagoya J. M. Sc.*, 1938, 12, 183-189.
401. OHASHI K. — Histochemical studies on phosphorylase in the ocular tissues. — *Acta Soc. Ophthalm. Jap.*, 1960, 64, 290-298, 435-441, 605-611.
402. ORZALESI F. — Glycolysis and respiration of the cornea of the vitamin A deficient albino rat. — *Boll. oculist.*, 1939, 18, 442-454.
403. OSTROVSKIJ M.A. — Localisation de l'acétyl cholinestérase dans la rétine de grenouille. — *Zh. obschch. Biol.*, S.S.S.R. 1961, 22, 6, 474-477.
404. OTTO J., HAHNEL R. — Proteolytische Fermente des menschlichen kammerwassers. — *Klin. Mbl. Augenheilk.*, 1960, 137, 296-306.
405. OVERBEEK G.A. — Fat. Splitting enzymes in blood. — *Clin. Chim. Acta*, 1957, 2, 1-8.
406. PATTI F., BONET-MAURY P. — Méthode colorimétrique pour le dosage de la catalase. — *Bull. Soc. Chimie biol.*, 1953, 35, 1177-1180.
407. PAU H. — Physiologische Chemie des Auges. — *G. Thième Verlag, Stuttgart*, 1958, 1, 365-396.
408. PAULUS W., HOCKWIN O. — Die Altersabhängigkeit der Aldolase-und Malatdehydrogenaseaktivität in Meerschweinchenlinsen. Der Einfluss von Röntgenstrahlen auf die Aktivität der beiden Enzyme. — *Graefes Arch. Ophthalm.*, 1961, 163, 314-319.
409. PAYRAU P. — Physiologie de la cornée. — *Leçons d'anatomie et de physiologie ophtalmologiques*, 1962, n° 18, 1-15.
410. PEARSE A.G.E. — *Histochemistry theoretical and applied*. Little Brown. Boston, 1960, vol. 1, 998 p.

411. PEARSE A.E.C. — Localization of oxidative enzymes in Rat and Chick retina, in various physiological conditions. — In *The Structure of the Eye* by SMELSER G.K., 1961, Ac. Press. N.Y. London.
412. PENA-CARRILLO J. — Estudio de la actividad glucosa-6-fosfatasa y citocromooxidasa en la cornea del conejo. — *Arch. Soc. Oftal. Hisp. amer.*, 1963, 23, 533-537.
413. PERRY S.V. — Myosin adenosinetriphosphatase, in *Methods in Enzymology*, Ac. Press, N.Y., 1955, 2, 582-588.
414. PETERSEN R.A., LEE K.J., DONN A. — Acetylcholinesterase in the rabbit cornea. — *Arch. Ophthalm.*, 1965, 73, 370-377.
415. PFERCH C., KARLI P. — Etude histochimique comparée du développement de quelques activités enzymatiques d'oxydation dans les couches externes de la rétine, chez la souris normale et chez les souris atteintes d'une dégénérescence héréditaire du neuro-épithélium rétinien. — *C. R. Soc. Biol.*, 1963, 157, 365-369.
416. PHILPOT F.J. — Factors affecting the hydration of the rabbit cornea. — *J. Physiol.*, 1955, 128, 504-510.
417. PHILPOT F.J., PIRIE A. — Riboflavin and riboflavin adenine dinucleotide in ox ocular tissue. — *Biochem. J.*, 1943, 37, 250-254.
418. PIERGUDI C. — The content of glutathione of some ocular fluids and tissues. — *Boll. oculist.*, 1935, 14, 996-1011.
419. PIRIE A. — Ascorbic acid content of cornea. — *Biochem. J.*, 1946, 40, 96-100.
420. PIRIE A. — The biochemistry of the eye. — *Bibl. Ophth. Basel*, 1957, 49, 287-377.
421. PIRIE A. — The biochemistry of the Eye. — *Nature, London*, 1960, 186, 352-354.
422. PIRIE A. — Metabolism of glycerophosphate in the lens. — *Exp. Eye Res.*, 1962, 1, 427-435.
423. PLAT P.M., BASTIDE P., DASTUGUE G. — De quelques activités enzymatiques des plaquettes sanguines. — *Nouv. Rev. Fr. Hématol.*, 1963, 3, 393-404.
424. PLATTNER F., HINTER H. — Die Spaltung von Acetylcholin durch Organextrakte und Körperflüssigkeiten. — *Arch. ges. Physiol.*, 1930, 225, 19-23.
425. POGELL B.M. — Biosynthesis of mucopolysaccharides in bovine cornea. — *Biochim. Biophys. Acta*, 1959, 31, 1, 280-282.
426. POLACK F.M. — Morphology of the cornea. Study with silver stains. — *Amer. J. Ophthalm.*, 1961, 51, 1051-1056.
427. POLATNICK J., LA TESSA A., KATZIN H.M. — Possible anti-vascularisation factors in the cornea. — *Amer. J. Ophthalm.*, 1956, 42, 897-898.
428. POLATNICK J., LA TESSA A.J., KATZIN H. — Comparison of bovine corneal and scleral mucopolysaccharides. — *Biochem. Biophys. Acta*, 1957, 26, 361-364.

429. POTTS A.M. — Some aspects of the interrelation between corneal hydration and corneal transparency. — *Invest. Ophthalm.*, 1962, 1, 163-169.
430. POULIQUEN Y. — Morphologie et ultrastructure du stroma cornéen normal. — *Bull. Soc. Ophthalm. Paris*, 1963, 63, 818-822.
431. PRAS R., OBENBERGER J., VOTOCKOVA J. — Studies on glycogen biosynthesis in guinea pig cornea by means of glucose. — *Cesk. fysiolog.*, 1960, 9, 6.
432. RACZ P. — The measurement of the amino acid content of the cornea and the aqueous humour in the Hare eye. — *Szemeszet*, 1963, 100, 217-220.
433. RAVIOLA E., RAVIOLA G. — Studio istochimico della retina di coniglio adulto e nel corso dello sviluppo postnatale e nell'adulto. — *Ann. Histochem.*, 1963, 8, 263-267.
434. REBIERE J.P. — Contribution à l'étude de quelques enzymes du placenta, des sangs de la mère et du nouveau-né. — *Thèse Doct. Univ. Pharmacie, Clermont-Ferrand*, 1961.
435. REDSLOB E. — *Traité d'Ophthalmologie*, 1939, vol. I, Masson éd., Paris.
436. REICH Th., HEALY R.W. — The effect of age on the carbonic anhydrase activity of bovine lenses. — *Amer. J. Ophthalm.*, 1953, 36, 500-503.
437. REIS J.L. — Phosphatase activity in the ocular tissues. — *Brit. J. Ophthalm.*, 1951, 35, 149-152.
438. REIS J.L. — Histochemical localization of alkaline phosphatase in the retina. — *Brit. J. Ophthalm.*, 1954, 38, 35-38.
439. REITMAN S., FRANKEL S. — Colorimetric method for the determination of serum transaminase activity. — *Amer. J. Clin. Path.*, 1957, 28, 1.
440. RENARD G., LEMASSON, SARAUX H. — *Anatomie de l'œil et de ses annexes*, 1965, Masson éd., Paris.
441. RIDLEY F. — An experimental investigation into intraocular pressure and drainage of the aqueous humor. — *Trans. Ophthalm. Soc. U.K.*, 1930, 50, 268-309.
442. RIGG P., RIGG R.W. — Corneal healing. — *Amer. J. Ophthalm.*, 1959, 48, 238-252.
443. RILEY M.V. — The sodium-potassium stimulated adenosine-triphosphatase of rabbit ciliary epithelium. — *Exp. Eye Res.*, 1964, 3, 1, 76-84.
444. RINALDI E., TIERI O. — The enolase activity of the retina of the rabbit. — *Acta Ophthalm., Kbh*, 1963, 41, 483-487.
445. ROBBIE W.A., LEINFELDER P.J., DUANE T.D. — Cyanide inhibition of corneal respiration. — *Amer. J. Ophthalm.*, 1947, 30, 1381-1386.
446. ROBERT A. — Contribution à l'étude du pouvoir protéolytique de l'humeur aqueuse. — *Lausanne*, 1918, 33 p.

447. ROBERT N., GOLDSMITH F. et T.H. — Adenosine triphosphatase activity in the rod outer segments of the pig retina. — *Arch. Biochem. Biophys.*, 1965, **110**, 3, 517-525.
448. ROBERT L., PARLEBAS J. — Biosynthèse in vitro de la kératoglycosaminoglycane, glycoprotéine de structure de la cornée. — *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1965, **47**, n° 10, 1908-1909.
449. ROBERT B., PARLEBAS J., ROBERT L. — Etude immunochimique d'une glycoprotéine de la cornée, la kératoglycosaminoglycane. — *1. C. R. Acad. Sci. Paris*, 1963, **256**, 323-325.
450. RODIGINA. — *Sovet. Vest. Ophthal.*, 1932, **1**, 121; in Bastide P., *Thèse Doct. Etat Médecine, Clermont-Ferrand*, 1961, de Bussac éd.
451. ROE J.H. — A colorimetric method for the determination of fructose in blood and urine. — *J. Biol. Chem.*, 1934, **107**, 15-22.
452. ROETTH A. de — Choline acetylase activity in ocular tissues. — *Arch. Ophthal.*, 1950, **43**, 849-852.
453. ROETTH A. de — Cholinesterase activity in ocular tissues and fluids. — *Arch. Ophthal.*, 1950, **43**, 1004-1025.
454. ROETTH A. de — Metabolism of the stored cornea. — *Arch. Ophthal.*, 1950, **44**, 659-665.
455. ROETTH A. de — Respiration of the cornea. — *Arch. Ophthal.*, 1950, **44**, 666-676.
456. ROETTH A. de — Glycolytic activity of the cornea. — *Arch. Ophthal.*, 1951, **45**, 139-148.
457. ROSA L. de — Le fosfatasi della cornea e del cristallino. — *Arch. Ottal.*, 1957, **61**, 475-486.
458. ROSALKI S.B. — Colorimetric method for determination of serum α -hydroxybutyric dehydrogenase activity. — *J. Clin. Path.*, 1962, **15**, 566.
459. ROSENBERG P., DETTBARN W.D., BRZIN M. — Acetylcholine and choline acetylase in Squid giant axon, ganglia and retina. — *Nature, London*, 1966, **210**, 858-859.
460. RUDNICK D. — Growth of glutamotransferase in the retina of the developing chick. — *Amer. J. Ophthal.*, 1956, **42**, 135-137.
461. RUDNICK D., WAELSCH H. — Development of glutamotransferase and glutamine synthetase in the nervous system of the chick. — *J. Exptl. Zool.*, 1955, **129**, 309-341.
462. SABURO H. — Amino acids in the retina. — *Acta Soc. Ophthal. Jap.*, 1951, **55**, 196-200.
463. SALLMANN von L., CARAVAGGIO L., GRIMES P. — Studies on the corneal endothelium of the rabbit. — *Amer. J. Ophthal.*, 1961, **51**, 955-966.
464. SALVIDIO E. — Attività nucleotidasi della fosfatasi acida e alcalina nelle piastrine normali e durante il periodo mestruale. — *Prog. Med.*, 1953, **9**, 562-567.

465. SCARPELLI D.G., CRAIG E.L. — The fine localization of nucleoside triphosphatase activity in the retina of the frog. — *J. Cell. Biol.*, 1963, 17, 2, 279-288.
466. SCHAEFFER A.J. — Amino acids in corneal healing. — *Amer. J. Ophthalm.*, 1950, 33, 641-645.
467. SCHAEFFER A.J., MURRAY J.D. — Amino acid composition of tissue proteins of the cornea, sclera, vitreous and retina. — *Arch. Ophthalm.*, 1950, 44, 833-841.
468. SCHAEFFER A.J., SHANKMAN S. — Amino-acid composition of proteins of the ocular tissues. — *Amer. J. Ophthalm.*, 1950, 33, 1049-1054.
469. SCHAPIRA F. — Contribution à l'étude de l'origine et de la régulation de l'aldolase sérique. — *Thèse Doct. Sciences, Paris*, 1959.
470. SCHIFFER D., VESCO C. — Histochemical observations about the pattern of tetrazolium reduction, with different substrates, in glia cells of normal and pathological human nervous tissue. — *J. Histochem. Cytochem.*, 1963, 11, 335-341.
471. SCHIMKE R.T. — Effects of prolonged light deprivations on the development of retinal enzymes in the rabbit. — *J. Biol. Chem.*, 1959, 234, 700-703.
472. SCHMIDT J.G.H. — Ueber den Neuraminsäuregehalt verschiedener Säugetierarten Die Hornhaut. — *Graefes Arch. Ophthalm.*, 1960, 162, 34-47.
473. SCHOLZ R.O., COWIE D.B., WILDE W.S. — Studies on the physiology of the eye using tracer substances. — *Amer. J. Ophthalm.*, 1947, 30, 1513-1526.
474. SCHWARTZ B., DANES B., LEINFELDER P.J. — The role of metabolism in the hydration of the isolated lens and cornea. — *Amer. J. Ophthalm.*, 1954, 38, 182-194.
475. SCUDERI G. — La Permeabilità corneale. — *Ed. Minerva Medica*, Torino, 1950, 241 p.
476. SCUDERI G. — Ricerche elettroforetiche e istochimiche sulle glicoproteine dell'epitelio e dell'endotelio corneale. — *Boll. oculist.*, 1962, 41, 209-229.
477. SCUDERI G., CARDIA L. — Sulle glicoproteine dell'endotelio corneale. — *Rev. bras. Oftal.*, 1962, 21, 5-12.
478. SCULLICA L., FUMAGALLI Z. — A proposito di una particolare localizzazione della attività fosfomonoesterasica alcalina a livello della cellule epiteliali della parte zonulare dei processi ciliari. — *Atti XLIX Cong. Oftal. Ital.*, 1959, 18, 469-472.
479. SEKOGUCHI Y. — Metabolism of glycogen in the frog retina. — *Seiri Seitai. Japan*, 1949, 3, 117-122.
480. SEKOGUTI Y. — On the A.T.Pase activities in the retina and the outer segments. — *J. Cell. Comp. Physiol.*, 1960, 56, 129-136.
481. SELIGMAN A.M., NACHLAS M.N. — The colorimetric determination of lipase and esterase in human serum. — *J. Clin. Invest.*, 1950, 29, 31-36.

482. SELIGMAN A.M., TSOU K.C., RUTENBURG S.A., COHEN R.B. — Histochemical demonstration of β -glucuronidase with a synthetic substrate. — *J. Histochem. Cytochem.*, 1954, 2, 209-229.
483. SEN M., DRANCE S.M., WOODFORD V.R. — Separation of bovine lens carbonic anhydrase into two components. — *Can. J. Biochem. Physiol.*, 1963, 41, 1235-1241.
484. SHANTHAVEERAPPA T.R. — Histochemical demonstration of thiamine pyrophosphatase and acid phosphatase in the Golgi region of the cells of the eye. — *J. Anat.*, 1965, 99, 103-117.
485. SHANTHAVEERAPPA T.R., BOURNE G.H. — Some observations on the corneal endothelium. — *Acta Ophthalm. Kbh.*, 1963, 41, 683-688.
486. SHANTHAVEERAPPA T., BOURNE G.H. — Further histochemical observations on the radial bands of the Optic Nerve Myelin Sheath. Studies on the distribution of β -glucuronidase. — *Exp. Cell. Res.*, 1963, 32, 196-199.
487. SHANTHAVEERAPPA T.B., BOURNE G.H. — Histochemical studies on the distribution of oxidative and dephosphorylating enzymes of the rabbit eye. — *Acta Anat.*, 1964, 57, 192-219.
488. SHANTHAVEERAPPA T.D., BOURNE G.H. — Histochemical studies on the distribution of acid phosphatase in the eye. — *Acta Histochem.*, 1964, 18, 317-327.
489. SHANTHAVEERAPPA T.R., BOURNE G.H. — Mono amine oxidase distribution in the rabbit Eye. — *J. Histochem. Cytochem.*, 1964, 12, 281-287.
490. SHANTHAVEERAPPA T.D., BOURNE G.H. — Histochemical studies on the distribution of β -glucuronidase in the eye. — *Histochemie*, 1964, 3, 413-421.
491. SHESTERICOVA T., ROSENFELD E. — Corneal metabolism. — *Ukrain. Biochem.*, 1946, 18, 201.
492. SHIBKOVA S.A. — Distribution of acid phosphatase activity in internal layers of retina. — *Arkiv. Anat. Gistol. Embriol.*, 1964, 46, 4, 42-47.
493. SIBLEY J.A., LEHNINGER A.L. — Determination of serum aldolase in animal tissues. — *J. Biol. Chem.*, 1949, 177, 859.
494. SILIATO F. — Sull' attivita mucolitica in vivo della ialuronidasi nella cornea. — *Ann. Ottal.*, 1952, 4, 241-249.
495. SIMONELLI M. — L'acido nicotinico nei tessuti e negli umori oculari. — *Boll. oculist.*, 1941, 20, 163-174.
496. SKRZYPCZAK K.E. — Some aspects of corneal endothelium investigation. — *Acta Ophthalm. Kbh.*, 1963, 41, 377-384.
497. SMELSER G.K., OZANICS V. — In *The cornea world congress*. J.H. King et J.W. McTigue ed., Butterworths, London, 1965.
498. SMITH E.L., HILL R.L. — Leucine aminopeptidase, in *The Enzymes* by Boyer P.D., Lardy H., Myrback K., Ac. Press. N.Y., 1960, 4, 37-62.

499. SMITS G. — Quantitative interrelationships of the chief components of some connective tissues during foetal and post-natal development in cattle. — *Biochim. Biophys. Acta*, 1957, 25, 542-548.
500. SOLLNER F. — Untersuchungen über altersbedingte Unterschiede im Stoffwechsel der Rinderhornhaut. — *Graefes Arch. Ophthalm.*, 1963, 165, 600-605.
501. STEFANELLI A., CATALDI E., IERADI L.A. — Istochimica della fosfatasi acida durante lo sviluppo embrionale della retina di pollo. — *Atti. Acad. Nazl. Lincei, Rend. Classe, Sci. Fis. Mat. Nat.*, 1961, 30, 664-668.
502. STEINVORTH E. — Papierelektrophoretische Untersuchungen über das Verhalten der wasserlöslichen Phospholipoproteide des Kalbshornhautepithels. — *Graefes Arch. Ophthalm.*, 1958, 160, 271-272.
503. STEINVORTH E. — Experimentelle Untersuchungen über das papierelektrophoretische Verhalten der wasserlöslichen Proteine des Kalbshornhaut epithels bei Einwirkung verschiedener Temperaturen und Medikamente. — *Graefes Arch. Ophthalm.*, 1960, 161, 466-491.
504. STROMINGER J., LOWRY O.H. — Quantitative histochemistry of brain. — *J. Biol. Chem.*, 1955, 213, 635-646.
505. SUDA M. — Acid mucopolysaccharides of ox and rabbit cornea. — *Jap. J. Ophthalm.*, 1959, 3, 223-228.
506. SUDA M. — Mucopolysaccharides of the stroma of the cornea and on incorporation of inorganic sulfate S_{35} into polysaccharide fractions in rabbit cornea. — *Biochem. Med. Mucopolysaccharides*, 1962, 213-219.
507. SUGAWARA K. — Cholinesterase in the aqueous humour. — *Acta Soc. Ophthalm. Japan*, 1953, 57, 744-754.
508. SULLMANN H. — Biochemistry of the eye. — *Ophthalmologica, Basel*, 1947, 113, 45-61.
509. SULLMANN H. — Histochemische untersuchungen über Phosphatasen der cornea. — *Vitam. U. Horm. Fermentfarschg.*, 1947, 1, 374-380.
510. SULLMANN H. — Fermente des Auges. — *Tabulae Biologicae*, 1951, 22, pars 2, 161-172.
511. SULLMANN H., PAYOT P. — Histochemische Untersuchungen über alkalische Phosphatase in der cornea. — *Ophthalmologica, Basel*, 1949, 118, 345-355.
512. SWANSON M.A. — Enzymes in phosphate metabolism, in *Methods in Enzymology*. Ac. Press. N.Y., 1955, 2, 541-543.
513. SZWARC B. — Histochemical research into distribution and activity of phosphatasen during the formation of the post-operational scar in the cornea. — *Referat XXV Zjazd Okulist. Pols.*, 1957, 2, 398-405.
514. SZWARC B. — Histochemical investigations of the cornea during lamellar keratoplasty using a lyophilized graft. — *Klin. oczna.*, 1961, 31, 289-293.

515. TAKAGI Y., TAKEMURA K. — Enzymes in the ocular tissues. — *J. Exp. Med. Japan*, 1954, 1, 125-132.
516. TAKAKU I. — The present state of studies on mucopolysaccharides in the ocular tissues. — *J. Clin. Ophthalmol.*, Tokyo, 1961, 15, 701-706, 1205-1218.
517. TALALAY P., FISHMAN W.H., HUGGINS C. — Chromogenic substrates; phenolphthalein glucuronic acid as substrate for the assay of glucuronidase activity. — *J. Biol. Chem.*, 1946, 166, 757-772.
518. TAOKA S. — Studies on the corneal permeability. — *Folia Ophthalm. Jap.*, 1957, 8, 474-477.
519. TAYLOR A.C., GOLDSMITH E.D., BEVELANDER G. — Alkaline phosphatase activity in cornea after abrasion. — *Anat. Rec.*, 1947, 99, 634-637.
520. TENG C.C. — Fine structure of the human cornea. — *Amer. J. Ophthalmol.*, 1962, 54, 969-1003.
521. TENG C.C., KATZIN H.M. — The basement membrane of corneal epithelium. — *Amer. J. Ophthalmol.*, 1953, 36, 895-900.
522. TESTA M. — Attività transaminasica dell'epitelio corneale di buco. — *Boll. Oculist.*, 1960, 39, 379-383.
523. TETERWAK-WŁODARSKA J., GODLEWSKI H.G. — Distribution of phosphorylases and glycogen in the cornea of rodents and human. — *Folia Histochem. Cytochem.*, 1963, 1, 47-54.
524. THIÉBLLOT L., BASTIDE P., BLAISE S., BOYER J., DASTUGUE G. — Influence chez le rat normal ou castré de l'administration de folliculine, testostérone, gonadotrophine chorionique et hypophysaire sur quelques activités enzymatiques de la prostate. — *Cong. des Sociétés Savantes, Clermont-Ferrand*, 3-7 avril 1963.
525. THOMAS Ch.I. — *The Cornea*, Thomas ed., Springfield, Ill., 1955.
526. TIERI O., POLZELLA A., RINALDI E., VECCHIONE L. — Ricerche sul meccanismo di azione dell'acido iodoacetico sulla retina. Attività triosofosfato-deidrogenasica. — *Boll. Soc. Ital. Biol. Sper.*, 1962, 38, 183-185.
527. TIERI O., VECCHIONE L. — L'attività fosfoglicomutase della retina in varie condizioni sperimentali. — *Atti XLV Cong. Soc. Oftal. Ital.*, 1961, 19, 297.
528. TIERI O., VECCHIONE L. — Action of α -chymotrypsin on the LDH of the cornea. — *Acta Ophthalm. Kbh.*, 1962, 40, 85-90.
529. TOMLINSON S., WESTALL R.G. — Arginosuccinase activity in brain tissue. — *Nature*, 1960, 188, 235-236.
530. TOWLSON M.J. — Calcium and adenosine triphosphatase activity of the developing rat retina. — *Nature, London*, 1964, 201, 295-296.
531. TRONCHE P. — Le lysozyme des glandes lacrymales. — *Clermont Médical*, 1953, 3, 129-137.

532. TSUCHIGA O. — *Acta Soc. Ophthalm. Jap.*, 1935, 39, 2133;
in Bastide P., *Thèse Doct. État Médecine, Clermont-Fer-*
rand, 1961, de Bussac éd.
533. TSUNEMACHI A. — Free amino acids and amino acid oxidase
in the Retina. — *Acta Soc. Ophthalm. Jap.*, 1955, 59,
641-644.
534. TSUNO S., HORISAKA K., SASAKI S., ASO K., TOKUE S. — Free
amino acids in Chicken eyes. The isolation and identi-
fication of histidine and anserine. — *J. Biochem.*, 1963,
54, 363-368.
535. USUI I. — Chemical components of sclera and cornea
determined by high-potential paper electrophoresis. —
Jap. J. Ophthalm., 1961, 5, 178-187.
536. UVNAS B., WOLF H. — On occurrence of acetylcholine
esterase in aqueous humor and vitreous body. — *Acta*
Ophthalm. Kbh., 1938, 16, 157-158.
537. VECCHIONE L., TIERI O., RINALDI R. — Phosphoglucomutase
activity of the Rabbit retina. — *Acta Ophthalm. Kbh.*, 1962,
40, 7-11.
538. VELHAGEN K. — Ueber das Vorkommen deperessorischer
Substanzen im Auges. — *Arch. Augenheilk.*, 1931, 104,
546-551.
539. VENKSTERN T.V. — Phosphorus compounds and enzymic
systems of the retina. — *Biokhimiya*, 1949, 14, 238-248.
540. VIALE G., APPONI G. — Histochemical studies on cholines-
terase in the human retina. — *Z. Zellforsch.*, 1961, 55,
673-678.
541. VIALE G., APPONI G. — Histochemical investigations on
amylophosphorylase and amylo-1.4 $\rightarrow$ 1.6-transglycosy-
lase in the human retina. — *Z. Zellforsch. Mikroskop.*
Anat., 1962, 56, 709-712.
542. VIHKARI K. — Studies of the cholinesterase activity of the
aqueous humor in man and some animals with special
reference to the influence of certain anticholinesterase.
— *Ann. Med. Exp. Biol. Fenn.*, 1955, 33, 125 p.
543. VINCENT D. — Les estérases du sérum. — *Prod. Pharm.*,
1951, 6, 15-20, 68-75.
544. VINCENT D., LAGREU R. — L'hydrolyse enzymatique de
l'acide acétylsalicylique. — *Bull. Soc. Chimie biol.*, 1949,
31, 216-221.
545. VINCENT D., PARANT M. — L'hydrolyse enzymatique de l'as-
pirine en clinique. — *Presse Méd.*, 1950, 58, 1030-1031.
546. VINCENT D., SEGONZAC G., SESQUE G. — La cholinestérase
érythrocytaire dans la cirrhose. — *Rev. Fr. Et. Clin. Biol.*,
1961, 6, 1083-1086.

547. VINCENTIUS M. de — Ulteriore contributo istochimico allo studio della fosfatasi nei tessuti oculari. — *Arch. Ottal.*, 1951, 55, 303-328.
548. VINCENTIUS M. de — Sulla colinesterasi del liquido sotto retinico. — *Arch. Ottal.*, 1955, 59, 434-447.
549. VINCENTIUS M. de, AURICCHIO G. — Sur le métabolisme des acides aminés dans les tissus oculaires. — *Acta Ophthal. Kbh.*, 1950, 28, 7-21.
550. VINCENTIUS M. de, BERARDINIS E. de — Sui processi di transmetilazione nei tessuti oculari. — *Rass. Ital. Ottal.*, 1950, 19, 237-249.
551. VINCENTIUS M. de, TESTA M. — Researches for biochemic characterizing of the phosphomonoesterase of ocular tissues. — *Acta Ophthal.*, 1959, 37, 491-494.
552. VIRMAUX N., MANDEL P. — Succinic dehydrogenase activity and oxidative phosphorylation of the mitochondria in the crystalline lens of Bovines. — *Nature, London*, 1963, 197, 792-793.
553. VOTOCKOVA J. — The importance of the anterior ciliary arteries in the nutrition of the cornea. — *Cesk. Oftal.*, 1962, 18, 1-7.
554. WACHSTEIN M., MEISEL E. — Histochemistry of hepatic phosphatase at a physiologic pH. — *Am. J. Clin. Pathol.*, 1957, 27, 1, 13-23.
555. WAINSTEIN R., LEOPOLD J.H. — Lactic dehydrogenase in the reaction of ocular tissues to injury in vitro, studied with nitro B.T. — *Amer. J. Ophthal.*, 1962, 54, 363-374.
556. WAITZMAN M.B. — A.T.P. stimulated adenylic acid deaminase activity at site of aqueous humor production. — *Amer. J. Physiol.*, 1960, 198, 665-671.
557. WAITZMAN M.B., BALLINTINE E.J. — Adenylic acid deaminase activity of ciliary processus. — *Amer. J. Ophthal.*, 1958, 46, 96-102.
558. WAKAE K. — Histochemical studies of the phosphatase reaction, especially the 5-nucleotidase and alkaline glycerophosphatase reaction in the stored cornea. — *Acta Soc. Ophthal. Japan*, 1963, 67, 189-198, 310-325.
559. WALTMAN S., SEARS M. — Catechol-O-methyltransferase and monoamine oxidase activity in the ocular tissues of albino rabbits. — *Invest. Ophthal.*, 1964, 3, 6, 601-605.
560. WEEKERS R. — Distribution of glucose in the novascularized media of the eye. — *Acta Ophthal. Kbh.*, 1940, 18, 259-270.
561. WEEKERS R. — Biochemistry of the normal and abnormal cornea. — *Ophthalmologica, Basel*, 1940, 100, 136-149.
562. WEVE H.J.M., FISCHER F.P. — Ueber den Fermentgehalt der retroretinalen Flüssigkeit bei Netzhantablösung. — *Arch. Augenheilk.*, 1936, 110, 198-205.

563. WEVE H.J.M., FISCHER F.D. — Ueber den Azetylcholinesterasegehalt der subretinalen Flüssigkeit bei rupturenellen Netzhantablösungen. — *Ophthalmologica, Basel*, 1939, 96, 348-351.
564. WHALBEEK K. Van, NEUMANN H. — Studies of corneal transparency under various experimental conditions. — *Arch. Ophthalm.*, 1951, 46, 482-485.
565. WHITEAR M. — An electron microscope study of nerves in the corneal epithelium. — *Experientia*, 1957, 13, 287-288.
566. WHITEAR M. — An electron microscope study of the cornea in mice, with special reference to the innervation. — *J. Anat.*, 1960, 94, 387-409.
567. WISLOCKI G.B. — The anterior segment of the eye of the Rhesus monkey investigated by histochemical means. — *Amer. J. Anat.*, 1952, 91, 233-261.
568. WISTRAND P.J. — Carbonic anhydrase in the anterior uvea of the rabbit. — *Acta Physiol. Scand.*, 1951, 24, 144-148.
569. WOHLGEMUTH J. — Ueber eine neue Methode zur quantitativen Bestimmung des diastatischen. — *Bioch. Zs.*, 1908, 9, 1-9.
570. WOODIN A.M. — The corneal mucopolysaccharide. — *Biochem. J.*, 1950, 47, 37-45; 1952, 51, 319-330.
571. WOODIN A.M. — The properties of a complex of the mucopolysaccharide and proteins of the cornea. — *Biochem. J.*, 1954, 58, 50-57.
572. WORTMAN B. — Enzymic sulphation of corneal mucopolysaccharides by beef cornea epithelial extract. — *J. Biol. Chem.*, 1961, 236, 974-978.
573. WORTMAN B. — Arylsulfatase activity in beef and rabbit corneal extracts. — *Arch. Biochem. Biophys.*, 1962, 97, 70-74.
574. WORTMAN B. — Variability of Keratan sulfate isolated from beef cornea. — *Biochem. Biophys. Acta*, 1964, 83, 288-295.
575. WORTMAN B., BECKER B. — Enzymatic activities of the lens. — *Amer. J. Ophthalm.*, 1956, 42, 342-346.
576. WORTMAN B., SCHNEIDER A. — Resolution of lactic dehydrogenase in beef cornea epithelium on diethylaminoethyl cellulose. — *Biochem. Biophys. res. Communic.*, 1960, 2, 179-183.
577. WROBLEWSKI K. — The clinical significance of alterations in transaminase activities of serum and other body fluids. — *Advances in Clinical Chemistry*. Ac. Press, N.Y. 1958, 1, 318-344.
578. YAMAMOTO T. — Phase contrast microscopic study of rabbit cornea. — *Acta Soc. Ophthalm. Jap.*, 1953, 57, 262-264, 296-299.
579. YAMAMOTO T., FURUSE A., WAKI M. — Cytochrome-oxydase in ocular tissues. — *Folia Ophthalm. Jap.*, 1958, 9, 447-452.

580. ZELLER E.A. — Contribution to the enzymology of the normal and cataractous lens on the catalase of the cristalline lens. — *Amer. J. Ophthal.*, 1953, 36, 51-53.
581. ZELLER E.A. — Enzymology of the media of eye. Direct photometric determination of cholinesterase and aliesterase of corpus vitreum. — *Arch. Biochem.*, 1956, 61, 231-240.
582. ZELLER E.A., DAILY L., WAKIM K.G. et HERRICK J.F. — Contribution to the enzymology of the normal and cataractous lens. — *Proc. Staff. Meet Mayo Clin.*, 1951, 26, 194-199.
583. ZELLER E.A., DEVI A. — On the enzymology of the refractive media of the eye. On the occurrence of proteolytic enzymes in normal and cataractous lens. — *Amer. J. Ophthal.*, 1957, 44, 281-284.
584. ZELLER E.A., SCHOCH D. — On the occurrence and biological function of lenticular peptidases. — *18^e Concilium Ophthalmologicum, Belgica*, 1958, 713-717.
585. ZIGMAN S., BURTON M., FONTAINE J., LERMAN S. — Nucleic acid metabolism in the lens. Ribonuclease activity and RNA turnover. — *Invest. Ophthal.*, 1963, 2, 621-625.
586. ZIGMAN S., CARLSSON B., STONE J.R. — Nucleic acid metabolism of the corneal epithelium. — *Exp. Eye Res.*, 1963, 2, 217-223.
587. ZIGMAN S., LERMAN S., BURTON M. — Nucleotide composition of the ribonucleic acids of the bovine corneal epithelium. — *Exp. Eye Res.*, 1963, 2, 272-273.
-

INDEX ALPHABÉTIQUE

DES ACTIVITÉS ENZYMATIQUES EXAMINÉES

DANS LA CORNÉE

	Pages		Pages
Activité fibrinolytique	61, 76	α -Hydroxybutyrate déhydrogénase	93
Adénosine triphosphatase	62, 77, 149	Indophénol oxydase	44
Alanine amino-transférase	49, 76, 105	Invertase	58
Alcool déhydrogénase	35	Isocitrate déhydrogénase	38, 74
Amino-acide oxydase	41	Kérato sulfotransférase	50
Amylase	137	Lactate	
Anhydrase carbonique	66	déhydrogénase	35, 73, 89, 165, 175
Aryl sulfotransférase	50, 75	Leucine	
Aspartate amino-transférase	49, 76, 105	aminopeptidase	61, 145, 173, 180
5-Bromo-indoxyl-acétate estérase	168	Lipases - aliestérases	51, 75, 111
Catalase	45, 72, 101	Lysozyme	60
Choline acétylase	47	Malate déhydrogénase	37, 74
Cholinestérase	51, 75, 115	Méthyltransférase	47
Citrate déhydrogénase	38	Mono-amine oxydase	41
Cytochrome oxydase	43, 72	α -Naphtyl-acétate estérase	167, 175
Désaminase	62	Nucléase	57, 77
Diaphorases	42, 74, 167, 175	Nucléoside phosphatase	63, 77, 171, 175
Fructose diphosphate		5-Nucléotidase	56, 77, 129, 171, 175
aldolase	65, 73, 74, 153	Oxydase	43, 72
β -Galactosidase	58	Peptidases	61, 76
Glucose-6-phosphatase	57, 133, 172, 180	Peroxydase	45, 72
déhydrogénase	39, 74, 97, 166, 175	Phosphatase	
Glucose-phosphate isomérase	73, 159	alcaline	54, 76, 123, 169, 175
β -Glucosidase	58	Phosphatase acide	56, 76, 123, 170, 175
β -Glucuronidase	58, 75, 141, 172, 180	Phosphorylase	48, 73
Glutamate déhydrogénase	41, 76	Pseudocholinestérase	51, 115, 168, 175
Glutathion réductase	42, 76	Pyruvate déhydrogénase	39
α -Glycérophosphate		Salicylestérase	119
déhydrogénase	39, 73	Succinate	
Hexokinase	49, 73	déhydrogénase	40, 74, 166, 175
Histaminase	42, 76	Sulfatase	57, 75
Hyaluronidase	59	Uridine-5-diphosphoglucose	
		transférase	48

TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION	11
----------------------	----

PREMIÈRE PARTIE

RECHERCHES BIBLIOGRAPHIQUES

CHAPITRE I : La Cornée	15
CHAPITRE II : Les Enzymes	29
CHAPITRE III : Oxydoréductases	35
CHAPITRE IV : Transférases	47
CHAPITRE V : Hydrolases	51
CHAPITRE VI : Lyases	65
CHAPITRE VII : Isomérases	69
CHAPITRE VIII : Activités enzymatiques et rôles biologiques ..	71

DEUXIÈME PARTIE

RECHERCHES EXPERIMENTALES

Etude biochimique

CHAPITRE I : Généralités	87
CHAPITRE II : Activité lactate déhydrogénasique	89
CHAPITRE III : Activité α -hydroxybutyrate déhydrogénasique ..	93
CHAPITRE IV : Activité glucose-6-phosphate déhydrogénasique .	97
CHAPITRE V : Activité catalasique	101
CHAPITRE VI : Activités amino-transférasiques	105
CHAPITRE VII : Activité lipasique-aliestérasique	111
CHAPITRE VIII : Activités cholinestérasiques	115
CHAPITRE IX : Activité salicylestérasique	119
CHAPITRE X : Activités phosphatasiques	123
CHAPITRE XI : Activité 5-nucléotidasique spécifique	129
CHAPITRE XII : Activité glucose-6-phosphatasique	133
CHAPITRE XIII : Activité amylasique	137
CHAPITRE XIV : Activité β -glucuronidasique	141

CHAPITRE XV :	Activité leucine aminopeptidasique	145
CHAPITRE XVI :	Activité adénosine-triphosphatasique	149
CHAPITRE XVII :	Activité fructose diphosphate aldolasique.. .. .	153
CHAPITRE XVIII :	Activité glucose-phosphate isomérasique	159

Etude histochimique

CHAPITRE I :	Techniques histo-enzymologiques	165
	Activité lactate déhydrogénasique.	165
	Activité glucose-6-phosphate déhydrogénasique .	166
	Activité succinate déhydrogénasique	166
	Activités diaphorasiqes	167
	Activité α -naphtyl-acétate-estérasique.. .. .	167
	Activité 5-bromo-indoxyl-acétate estérasique ..	168
	Activité pseudo-cholinestérasique.. .. .	168
	Activités phosphatasiques	169
	Activité 5-nucléotidasique	171
	Activité nucléoside triphosphatasique	171
	Activité glucose-6-phosphatasique	172
	Activité β -glucuronidasique	172
	Activité leucine aminopeptidasique	173
CHAPITRE II :	Résultats et Clichés.. .. .	175
DISCUSSION ET CONCLUSIONS GÉNÉRALES.. .. .		181
BIBLIOGRAPHIE		187
INDEX ALPHABÉTIQUE DES ACTIVITÉS ENZYMATIQUES.. .. .		223
TABLE DES MATIÈRES		225

DEUXIEME THESE

Proposition donnée par la Faculté :

PERMÉABILITÉ DE LA CORNÉE

